Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma von Patientinnen mit Anorexia nervosa

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard - Karls - Universität
Tübingen

vorgelegt von
Regine Keßler
aus Ludwigsburg

1983

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma von Patientinnen mit Anorexia nervosa

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard - Karls - Universität
Tübingen

vorgelegt von
Regine Keßler
aus Ludwigsburg

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr.W.Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr.A.E.Schindler
2. Berichterstatter:	Professor Dr.H.A.Hirsch

Für die freundliche Überlassung des Themas möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. A.E. Schindler danken; besonderer Dank gilt Herrn Dr.med. Göser, der mir stets mit seinem Rat zur Seite stand. Die Medizinisch Technischen Assistentinnen des RIA-Labors warer mir eine große Hilfe bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543922_0073

1. EINLEITUNG
1.1 Historischer Abriß
1.2. Ätiologie der Anorexia nervosa
1.3. Symptomatologie der Anorexia nervosa
1.4. Problemstellung

2. MATERIAL UND METHODE
2.1. Beschreibung des Patientenkollektivs
2.2. Materialien
2.2.1. Gewinnung der Blutproben
2.2.2. Apparative Ausrüstung und Glasgeräte
2.2.3. Chemikalien
2.2.4. Kristalline Steroide
2.2.5. Radioaktive Stoffe
2.2.6. Antiserum
2.3. Methode
2.3.1. Prinzip des Radioimmunoassay
2.3.2. dextran-coated-charcoal
2.3.2.3. Kalte Standardlösungen
2.3.2.4. Tracerlösungen
2.3.2.5. Antiserum
2.3.2.6. Fließmittelsystem für Säulentrennung
2.3.2.7. Sephadex-Suspension
2.3.3. Vorversuche
2.3.3.1. Überprüfung der Trennungsfraktion
2.3.3.2. Kontrollseren
2.3.3.3. Normalwerte
2.3.4. Durchführung des Radioimmunoassay
2.3.4.1. Inkubation
2.3.4.2. Extraktion
2.3.4.3. Säulenchromatographische Trennung
2.3.4.4. Radioimmunologische Bestimmung
2.3.4.4.1. Inkubation
2.3.4.4.2. Abstoppvorgang

2.3.4.4.3. Dekantiervorgang
2.3.4.4.4. Messung der Radioaktivität im Counter
2.3.4.5. Auswertung
2.3.5. Kriterien für die Brauchbarkeit des RIA

3. ERGEBNISSE
3.1. Vorversuche: Normalwerte
3.2. Hauptversuche
3.2.1. Werte der ermittelten T- und DHT-Konzentrationen
3.2.1.1. Mittelwerte
3.2.1.2. Streuung der Werte
3.2.1.3. Konzentrationsverhältnisse von T und DHT
3.2.1.4. Beziehungen zwischen T/DHT und Körpergewicht bzw. Gewichtsverlust
3.2.2. Werte der zusätzlich bestimmten Hormonkonzentrationen im Vergleich zu T und DHT.

4. DISKUSSION

5. ZUSAMMENFASSUNG

6. ANHANG: Tabellen

7. LITERATURVERZEICHNIS

8. LEBENSLAUF

1. EINLEITUNG

1.1. Historischer Abriß

Die Erstbeschreibung einer Anorexia nervosa (AN) durch einen italienischen Arzt geht bis ins Mittelalter zurück. Als nächste, uns aus der medizinischen Literatur bekannte Arbeit erschien 1694 eine Veröffentlichung von MORTON, in welcher das Krankheitsbild der Anorexia nervosa unter der Bezeichnung "Phtisis nervosa" (nervöse Schwindsucht) dargestellt wird. Die Reihe wird fortgesetzt von GULL in England und LASEGUE in Frankreich, die 1868 bzw. 1873 zum ersten Mal in umfassenden Studien die aus heutiger Sicht relevanten Symptome der Anorexie beschrieben. LASEGUE bezeichnete dieses Syndrom als "Anorexia hysterica", worin die damalige und lange Zeit beibehaltene Auffassung einer psychiatrischen Genese dieser Erkrankung zum Ausdruck kommt.
Nachdem SIMMONDS 1914 in seiner Veröffentlichung zur Hypophysen-Vorderlappen-Insuffizienz organische hypophysäre Störungen bei untergewichtigen Frauen gefunden und Symptome beschrieben hatte, wie sie auch bei der Anorexie auftreten, wurde diese als "hypophysäre Kachexie" definiert und dementsprechend therapiert.
Dieses Konzept wurde 1949 in einer Arbeit von SHEEHAN und SIMMERS widerlegt. Sie beschrieben das klinische Bild eines globalen Krankheitsprozesses der Adenohypophyse als ein völlig Verschiedenes von dem der Anorexia nervosa.
Heute steht es außer Frage, daß es sich im Gegensatz zum Panhypopituitarismus der Simmond'schen Kachexie bei der Anorexia nervosa um das endokrine Syndrom eines Hypopituitarismus handelt, bei welchem es infolge einer partiellen Insuffizienz des Hypophysenvorderlappens zur Einschränkung der Gonadotropinsekretion und damit der Gonadenfunktion kommt.

1.2. Ätiologie der Anorexia nervosa

Die Problematik um Ätiologie und Pathogenese der Anorexia nervosa war lange Zeit Mittelpunkt zahlreicher kontroverser Diskussionen.
Schon GULL und LASEGUE nahmen, wie oben erwähnt, eine Psychogenese an. Dennocn wurde in der Folgezeit, jedoch vergeblich , nach einer endokrinen oder anderen somatischen Ursache gesucht.
Nach THOMÖ (1967) ist inzwischen gesichert, daß die Erkrankung psychogen bedingt ist, daß begleitende somatische und endokrine Störungen sekundär und als Folge davon aufzufassen sind - eine Meinung, wie sie heute im Allgemeinen vertreten wird.
Die Tatsache, daß die Anorexia nervosa überwiegend in der Pubertät und nahezu ausschließlich bei weiblichen Personen in Erscheinung tritt, legt den Schluß nahe, daß es sich bei der dieser Erkrankung zu Grunde liegenden Problematik um eine Reifungskrise handelt, die ihren Ursprung nach JORES (1963) in einer frühkindlichen Fehlentwicklung haben soll. diese kommt zum Tragen während der Reifung des jungen Mädchens zur erwachsenen Frau. Sie findet ihren Ausdruck in einer unreifen, ambivalenten Einstellung zur weiblichen Rolle, in Konflikten zwischen Sehnsucht nach Geborgenheit,nach Zuwendung einerseits und Tendenzen nach Selbstständigkeit,Selbstverantwortlichkeit und Persönlichkeitsfindung andererseits.Hierbei kommt der Mutter,zu der in den allermeisten Fällen eine sehr enge Beziehung besteht,eine bedeutende Rolle zu (FRICK, 1977). Ein in der Kindheit vorhandenes Idealisierungs-und Identifizierungsbestreben zur Mutter wird in der Pubertät abgelehnt, was sich in dem Wunsch, äußerlich unweiblich und unerwachsen zu bleiben zeigt.
Nach CRISP (1965) resultieren solche emotionalen,sexuellen und sozialen Spannungen im Zusammenhang mit physi-

schen Veränderungen während der Pubertät bei Patientinnen mit AN in einer phobischen Abwehr gegen Nahrungsaufnahme.
Der Schweregrad einer aus derartigen unbewältigten Konflikten entstandenen neurotischen Fehlentwicklung ermöglicht nach FRICK (1977) eine Differenzierung des Krankheitsbildes in Anorexia nervosa und anorektische Reaktion (AR). Hierbei wird die Anorexia nervosa als Neurose aufgefaßt und hinsichtlich ihrer psychopathologischen Aspekte charakterisiert durch eine ablehnende Einstellung zur weiblichen Erwachsenenrolle und eine völlig fehlende Krankheitseinsicht. Die klinisch leichter verlaufende anorektische Reaktion stellt eine neurotische Fehlverarbeitung dar, bei welcher die Einsicht in bestehende Konflikte und ein gewisser Leidensdruck vorhanden sind und die Rolle der erwachsenen Frau nicht in der für die AN charakteristischen Konsequenz abgelehnt wird.

1.3. Symptomatologie der Anorexia nervosa

Zum typischen Krankheitsbild der Anorexia nervosa, die zu 97% bei Patienten weiblichen Geschlechts (JORES,1976) und vorwiegend im Alter von 15 bis 25 Jahren auftritt, gehört die Symptomtrias:
- Untergewicht infolge Nahrungsverweigerung
- sek. Amenorrhoe und
- Obstipation.

Begleitend können fakultative Symptome wie Erbrechen, sporadische Episoden von Bulimie, Bewegungsdrang bis zur Erschöpfung und Laxantienabusus mit konsekutiver Hypokaliämie und entsprechenden EKG-Veränderungen auftreten. Außerdem weist ein hoher Anteil der Patientinnen ein für die AN typisches Persönlichkeitsprofil auf (WILLI,1976). Dia Symptome lassen sich demzufolge ihrer Pathogenese

nach gliedern in: psychopathologische Aspekte, abnorme Eßgewohnheiten und endokrine Störungen.

a) psychopathologische Aspekte

RUSSEL (1970) beschreibt ein überdurchschnittlich häufiges Auftreten von depressiven Persönlichkeiten bei anorektischen Patientinnen, daneben sind zuweilen ausgeprägt hysterische und phobische Züge dominierend (MAWSON,1974). Charakteristisch und allen AN-Patientinnen gemeinsam sind eine geradezu panische Angst vor Fettleibigkeit und eine dem schließlich erreichten kachektischen Zustand scheinbar inadäquate Hyperaktivität. In ihrem Wesen sensibel und differenziert, entbehren sie offensichtlich jeglichem Leidensdruck, sind affektiv unerreichbar und allen ärztlichen oder psychotherapeutischen Maßnahmen gegenüber unzugänglich(WILLI, 1976).

b) abnorme Eßgewohnheiten

Störungen bezüglich der Nahrungsaufnahme äußern sich nach FRAHM (1973) in tatsächlicher Inappetenz, Nichtessenwollen, Nichtessenkönnen unter bestimmten Milieubedingungen, in der Aneignung abnormer diätetischer Gewohnheiten bis zu selbstinduziertem Erbrechen und Abmagerungskuren durch Laxantienabusus.
Daraus resultierend kann das Körpergewicht auf mehr als 50% des Normalgewichts reduziert sein (LUPTON,1976). Folgeerscheinungen dieser Unterernährung sind Hypothermie, Hypotension, Bradykardie, Hypokaliämie und extreme Hauttrockenheit, außerdem das Auftreten von peripheren Ödemen und eine reduzierte metabolische Umsatzrate (LUNGGREN et.al. 1961).
In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob Appetitstörungen und abnorme Eßgewohnheiten, wie sie bei AN in Erscheinung treten, durch somatische oder physiologische Korrelate zu erklären sind.

In der Literatur sind Beziehungen beschrieben zwischen körpereigener Regulation der Nahrungsaufnahme und Magenmotilität, wonach eine gesteigerte Magenmotilität mit dem Auftreten von Hungergefühlen einherzugehen scheint (MAWSON,1974). Diesbezügliche Untersuchungen von SILVERSTONE und RUSSEL (1967) ergaben keine Auffälligkeiten bei Patientinnen mit Anorexia nervosa. Ebensowenig konnten RUSSEL und BRUCE (1964) pathologische Veränderungen des Glucosemetabolismus bei diesen Frauen feststellen.
Andererseits wurden in zahlreichen Tierversuchen durch experimentelle Läsionen oder Stimulation verschiedener Regionen des Hypothalamus bestimmte, die Nahrungsaufnahme beeinflußende Areale identifiziert. COLE (1973) postuliert ein ventomedial gelegenes"Sättigungszentrum" und ein laterales "Hungerzentrum" und nimmt an, daß das Einwirken von Katecholaminen auf beide Zentren zu einer Anorexie führen kann.
Die Funktion des Hypothalamus als die einer Umschaltstelle für emotionale und andere exteroceptive afferente Stimulie auf das vegetative Nervensystem und das Endokrinum kann heute als gesichert gelten. Es ist deshalb durchaus einleuchtend, daß psychologische und psychopathologische Geschehnisse über den zentralen Katecholaminstoffwechsel modifizierend in die Funktionsabläufe der hypothalamischen, die Nahrungsaufnahme regulierenden Kerngebiete eingreifen können.

c) endokrine Funktionsstörung

Zahlreiche Studien der letzten Jahre befaßten sich mit der Pathogenese der sekundären Amenorrhoe bei AN, die als das wohl hervorstechendste Symptom der endokrinen Dysfunktion dieses Krankheitsbildes imponiert.
Die überwiegende Mehrzahl der Autoren deutet ihre Ergebnisse im Sinne einer Störung der Funktionsachse Hypothalamus - Hypophyse - Endorgan.

Dabei werden kontroverse Auffassungen diskutiert bezüglich der Frage, ob die Amenorrhoe bei Anorexia nervosa eine Folgeerscheinung des Untergewichts, das Resultat psychopathologischer Geschehnisse oder Folge noch zusätzlich wirksamer Faktoren darstellt.
BORGHI et.al.(1976) beschreiben ein Patientenkollektiv, in welchem 17% der Fälle als Erstsymptom eine Amenorrhoe aufwiesen, bei 48% traten Amenorrhoe und Gewichtsverlust gleichzeitig auf, bei 34% der Patientinnen ging der Amenorrhoe ein Gewichtsverlust voraus. In den letztgenannten Fällen scheint die Unterernährung tatsächlich ursächlich für die Stagnation des ovulatorischen Zyklus zu sein. Dies wird gestützt in Untersuchungen von TRAVAGLINI und BORGHI (1976), die eine Restitution des Zyklusgeschehens nach Normalisierung des Körpergewichts beschreiben.
BEAUMONT et.al.(1976) schließen aus vergleichenden Untersuchungen von Körpergewicht und Hormonprofilen bei anorektischen Patientinnen, daß das Körpergewicht wohl eine wichtige, wenn auch nicht die einzige Determinante für die veränderten Hormonkonzentrationen und Amenorrhoe bei AN ist. Als nutritive, eine sekundäre Amenorrhoe auslösende Faktoren zählen PIMSTONE (1976) und BACKER (1968) allgemeine Unterernährung, Mangel an hochwertigen Proteinen oder Vitaminmangel auf.
Andererseits weisen Fälle von Amenorrhoe ohne vorausgegangenen Gewichtsverlust (21% eines AN-Kollektivs bei LUPTON,1976) und fehlende Korrelationen von Gewichtsverlust und Ausmaß der endokrinen Störung auf weitere pathogenetisch wirksame Faktoren hin. FRIES (1974) berichtet vom Auftreten einer Amenorrhoe als Reaktion auf aktuellen Streß, bei Reisen, Gefängnisaufenthalten und in Konzentrationslagern.
In diesem Zusammenhang sei auf die Hypothese von LUPTON et.al. (1976) hingewiesen, wonach das gleichzeitige Auftreten von psychiatrischen Störungen und einer Amenorrhoe

bei der Anorexia nervosa auf eine beiden Symptomen zugrunde liegende Veränderung der zentralen Neurotransmitteraktivitäten hinweist.
Nach FRAHM (1974) reichen weder psychologische Ursachen noch die Reduktion des Körpergewichts zur Begründung der Amenorrhoe bei AN aus. Als Ansatzpunkt dafür sieht er eine prädisponierende diencephal-hypothalamische Vulnerabilität an, die gewisse Frauen empfänglich macht für unspezifische Stimulie wie emotionalen Streß und oder Gewichtsabnahme.

Neue Erkenntnisse der Endokrinologie und die Einführung ultrafeiner Meßmethoden ermöglichten subtile Untersuchungen des Funktionssystems Hypothalamus-Hypophyse-Endorgan. Durch Ausschluß primär hypophysärer, ovarieller, thyreoidaler und adrenaler Veränderungen konnte eine hypothalamische Dysfunktion als Ursache der endokrinen Störung bei Anorexia nervosa wahrscheinlich gemacht werden.
In Langzeitstudien von AN-Patientinnen mit Verlaufskontrollen vor, während und nach Therapie erwiesen sich sämtliche endokrinen Veränderungen als potentiell reversibel und die Störung damit als eine funktionelle (15,16). Hinweise auf eine gestörte oder unreife hypothalamische Funktion sind das Ausbleiben der zyklischen Schwankungen der Gonadotropinkonzentrationen (67), ein Fehlen des pulsierenden 24h-Sekretionsmusters von LH (70,83) und eine negative Reaktion im Clomiphentest (70,80,86).

Gonadotropine

Die basalen Gonadotropinkonzentrationen im Plasma werden im allgemeinen erniedrigt gefunden, sie liegen zumindest im unteren Bereich der Norm (51,73,80,19). Davon ist FSH in geringerem Ausmaß als LH betroffen (13,55,60). Entsprechend hoch (bis 80%) ist der Anteil hypogonadotroper Patientinnen bei AN (50,72,70). Die Tatsache, daß die Gonadotropinausscheidung im Urin zwar vermindert, aber

immerhin meßbar ist, macht das Vorliegen eines Panhypopituitarismus unwahrscheinlich (11).

LHRH-Test

Zur Beurteilung einer hypothalamisch-hypophysären Störung werden LHRH-Tests durchgeführt. Die Höhe des hypophysären response bei Patientinnen mit AN steht in Einklang mit den entsprechenden klinischen Kriterien.
So werden Korrelationen mit der Dauer der Amenorrhoe, dem Gewichtsverlust (15), insbesondere aber mit dem Grad der Ausprägung des Krankheitsbildes beschrieben (13,19, 50,70).
Es finden sich überwiegend normale Stimulationswerte von LH, die in der Konstellation mit niedrigen Basalspiegeln eine erhaltene Fähigkeit der Hypophyse zur Synthese und Inkretion der Gonadotropine beweisen (82).
In anderen Untersuchungen bestätigen sich zwar die niedrigen basalen LH-Konzentrationen, es ergeben sich jedoch verminderte LH-Stimulationswerte als Ausdruck einer herabgesetzten hypophysären Reservekapazität für LH. Bei normalen FSH-Basalspiegeln weisen diese Frauen eine gesteigerte FSH-Stimulierbarkeit nach synthetischem LRH auf (51,59,60,73). Diese Hormonprofile von FSH und LH vor und nach LRH-Stimulation entsprechen dem Entwicklungszustand eines präpubertären Mädchens (17,85) und können als Regression in Bezug auf die verschiedenen Tannerstadien (BIII-BI,R2-RO) interpretiert werden (50). Das Auftreten eines derartigen Reaktionsmusters steht in Abhängigkeit zur Ausprägung des Krankheitsbildes, es läßt sich bei der milder verlaufenden Form der anorektischen Reaktion und nach erfolgreicher Psychotherapie nicht mehr nachweisen (50).
Das Konzept eines hypothalamischen Hypogonadismus wird gestützt durch Untersuchungen bei Langzeittherapie mit LHRH, bei welchen mit Hilfe von wiederholten LHRH-Injektionen ein normales Zyklusgeschehen induziert werden kann (60).

Östrogene

Entsprechend der verminderten gonadotropen Funktion der Hypophyse weisen Patientinnen mit AN erniedrigte Östrogenkonzentrationen im Plasma auf (13,50,55,67).Hierbei scheint das Sekretionsmuster im Sinne einer relativ verminderten Ausscheidung von Östriol zugunsten von Östron und Östradiol verändert zu sein (40,66).
Auch bei den Östrogenen wird entsprechend den Gonadotropinen ein Anstieg der Plasmaspiegel mit zunehmender hypophysärer Stimulierbarkeit und normalisiertem Körpergewicht beschrieben (60,50). Hierin zeigt sich die Restitution der im akuten Zustand der Anorexia nervosa eingeschränkten Ovarfunktion.

Prolaktin

Die Plasmakonzentrationen von Prolaktin werden vom überwiegenden Teil der Autoren als normal beschrieben (13,50, 70,82), einzelne Untersuchungen ergeben erhöhte Werte (80). Im Hinblick darauf, daß Prolaktin hemmend auf das reproduktive System wirken kann, könnten erhöhte Spiegel verantwortlich sein für die erniedrigten Östrogenwerte bei Patientinnen mit normalen Gonadotropinspiegeln.

Schilddrüdenhormone

Vom klinischen Aspekt her bieten die meisten Patientinnen mit AN das Bild einer Euthyreose (60), dementsprechend finden sich T_3 - und T_4 -Konzentrationen im Normbereich (31,50).
Andere Autoren beschreiben bei normalen T_4-Plasmaspiegeln verminderte T_3-Werte (16,18,25,70). Dieser Befund ist typisch für chronisch verlaufende Erkrankungen mit allgemeinem Hypometabolismus und resultiert aus einer Reduktion der peripheren Dejodination von T_4 zu T_3 (16).
Protrahiert verlaufende TSH-Anstiege im TRH-Stimulationstest (39,50,80) scheinen hypothalamisch bedingt zu sein.

Entsprechendes gilt für Fälle, die bei Vorliegen einer erhöhten TSH-Basalkonzentration, erniedrigten T_3- und T_4-Werten und von Seiten des klinischen Bildes als Schilddrüsenunterfunktion diagnostiziert werden (5,6).

Cortisol

In vielen Untersuchungen werden erhöhte morgendliche Cortisolkonzentrationen und inadäquate oder völlig fehlende zirkadiane Schwankungen beschrieben (6,33,55,19). Die gesteigerte Sekretion von Cortisol als Hinweis auf eine adrenale Überfunktion könnte resultieren aus der bei AN häufig zu beobachtenden Hypoglykämie. Das Fehlen einer zirkadianen Rhythmik ist wohl in ursächlichem Zusammenhang mit der hypothalamischen Störung zu sehen (82).

1.4. Problemstellung

Im Zusammenhang mit der Erhebung des endokrinen Status bei Patientinnen mit Anorexia nervosa wurde der gonadal-androgenen Funktion in bisherigen Untersuchungen wenig Beachtung geschenkt.
Im Hinblick auf die Tatsache, daß Frauen mit AN sowohl unter psychischen Gesichtspunkten als auch von seiten ihres Hormonhaushaltes ein unreifes, retardiertes Erscheinungsbild bieten, ist die Auffassung bemerkenswert, wonach Androgene einmal die psychosexuelle Entwicklung beeinflußen (26,69), zum anderen direkt oder indirekt in Reifungsprozessen der hypothalamisch-hypophysär-ovariellen Achse wirksam werden (29,69,71).
Die Plasmakonzentrationen der Androgene sind vor allem unter dem Aspekt des bei Anorexia nervosa vorliegenden Hypogonadismus von Bedeutung, weil das Ovar neben extraglandulärem Metabolismus und Nebennierenrinde einen wesentlichen Anteil an der Biosynthese der androgenen Steroide bei der Frau stellt.(38,71,81). Dabei beträgt der ovarielle Anteil an zirkulierenden Androgenen je nach Zyklusabschnitt zwischen 4-10% für Dehydroepiandrosteron, 45-70% für Androstendion und 33-60% für Testosteron (1,9, 48).
Ausgehend von der Tatsache, daß infolge einer Minderstimulation der Ovarien die Syntheserate der Östrogene sinkt, besteht Grund zu der Annahme, daß auch die ovariellen androgenen Steroide in vermindertem Umfang synthetisiert und sezerniert werden. Zum anderen ist ein enger Zusammenhang zwischen Androgenen und Östrogenen insoweit erwiesen, als vor allem Testosteron und Androstendion direkte Vorstufen für die Östron- und Östradiolsynthese darstellen.(17,38,44,71).
Sinn und Zweck dieser Studie war es deshalb, in Ergänzung zu anderen Untersuchungen (49) den hormonellen Status bei

Status bei Anorexia nervosa bezüglich der Androgene, speziell für Testosteron (T) und Dihydrotestosteron (DHT) abzuklären. Wir erhofften uns Aufschluß über die Frage, ob bei diesen Hormonen in Analogie zu anderen (Gonadotropine, Östrogene u.a.) veränderte Konzentrationen im Plasma nachzuweisen und diese eventuell als diagnostisches Kriterium in der endokrinologischen Praxis zu verwerten sind.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1. Beschreibung des Patientenkollektivs

Die hier vorliegende Studie umfaßt und beschreibt ein Kollektiv von insgesamt 77 Patientinnen, die in der Universitätsklinik Tübingen gynäkologisch und endokrinologisch untersucht wurden.
Die Patientinnen wurden psychoexploriert und ihre Krankheitsbilder nach Kriterien von Frick (34) klassifiziert in

- Anorexia nervosa (AN) und
- Anorektische Reaktion (AR).

Die Anorexia nervosa wird entsprechend der Ausprägung der Erkrankung als Neurose, die anorektische Reaktion als neurotische Fehlverarbeitung aufgefaßt.
Das Kollektiv AN setzte sich zusammen aus Patientinnen mit schwerem Verlauf der Erkrankung - AN_S, und solchen, die zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits unter Therapie standen, d.h. ein leichteres Krankheitsbild aufwiesen (AN_L).

Für die einzelnen Gruppen ergab sich folgende Aufteilung bezüglich der Anzahl an Patientinnen und Proben:

Gesamtzahl der Patientinnen: 77
- AN_S: 8 Pat., entsprechend 10,38 %
- AN_L: 24 Pat., entsprechend 31,16 %
- AR : 45 Pat., entsprechend 58,44 %

Gesamtzahl an untersuchten Proben: 102
- AN_S: 10 Pr., entsprechend 9,8 %
- AN_L: 31 Pr., entsprechend 30,4 %
- AR : 61 Pr., entsprechend 60,8 %

Das durchschnittliche Alter betrug 20,9 Jahre (in einem Bereich von 15 bis 33 Jahren), die einzelnen Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Das Durchschnittsgewicht im Gesamtkollektiv lag zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 47,43 ± 6,29 kg, es belief sich auf folgende Werte in den Teilkollektiven:

- AN_S: 38,8 ± 7,5 kg n= 7
- AN_L: 48,5 ± 6,8 kg n= 22
- AR : 48,8 ± 4,7 kg n= 43

Die Gewichtsangaben wurden umgerechnet in Prozent des Idealgewicht, woraus sich folgende Werte ergaben:

- AN_S: 70,44 ± 9,8 %
- AN_L: 88,19 ± 13,1 %
- AR : 85,46 ± 7,7 %

Für das Gesamtkollektiv ergab sich ein durchschnittlicher Wert von 85,34 ± 11,16 %.

Der durchschnittliche Gewichtsverlust betrug im Gesamtkollektiv 10,52 ± 8,01 kg, in den einzelnen Kollektiven ergaben sich signifikante Unterschiede bei folgenden Mittelwerten:

- AN_S: 20,83 ± 12,05 kg n= 6
- AN_L: 10,61 ± 9,37 kg n= 18
- AR : 8,75 ± 4,29 kg n= 36

Signifikanzgrade: AN_S/AN_L $p<0.05$, AN_S/AR $p<0.001$

Entsprechendes ergibt sich bei der Umrechnung dieser Absolutwerte in die Prozentzahlen des ursprünglichen Gewichts:

- AN_S: 34,00 ± 17,02 % Gewichtsverlust n= 6
- AN_L: 18,52 ± 13,48 % Gewichtsverlust n= 17
- AR : 15,38 ± 6,35 % Gewichtsverlust n= 36

Signifikanzgrade: AN_S/AN_L $p<0.05$, AN_S/AR $p<0.001$.

Die Dauer der Amenorrhoe betrug im Gesamtkollektiv durchschnittlich 37,1 ± 29,4 Monate, bei Betrachtung der Einzelkollektive ergab sich folgendes Bild:

- AN_S: 37,42 ± 29,34 Mon. n= 7
- AN_L: 50,31 ± 36,6 Mon. n= 22
- AR : 29,59 ± 23,36 Mon. n= 39

Der auffallend hohe Wert im Kollektiv AN_L läßt sich damit erklären, daß sich die Patientinnen dieser Gruppe zum Zeitpunkt der Untersuchung schon länger in klinischer Beobachtung befanden.

Neben den Symptomen des Gewichtsverlustes und der Amenorrhoe wiesen

- 6 Pat. (= 4,6%) einen geringen Hirsutismus,
- 12 Pat. (= 9,2%) Akne und
- 10 Pat. (= 7,7%) Hirsutismus und Akne auf.

Davon entfielen auf die Einzelkollektive:

	H	H+A	A	Gesamtz.
- AN_S:	-	-	1 (0,8%)	8
- AN_L:	3 (0,7%)	2 (0,5%)	2 (0,5%)	24
- AR :	3 (1,4%)	8 (3,6%)	9 (4,1%)	45

Die gynäkologische Untersuchung dieser Frauen ergab überwiegend einen hypoplastischen bis atrophischen Genitalbefund:
Bei unbehandelten Patientinnen mit Anorexia nervosa fanden sich in 25% der Fälle atrophische, in 62,5% hypoplastische Genitalien, 87,5% wiesen eine nur geringe Entwicklung der Mammae auf. Bei den bereits behandelten Patientinnen waren es noch 9,3% Frauen mit atrophischen, 38% mit hypoplastischen Genitalien und 62,5% mit unterentwickelten Mammae. Im Kollektiv AR schließlich zeigten noch etwa 35% der Patientinnen hypoplastische Genitalien und Mammae.

Die Untersuchungen wurden ergänzt durch Schilddrüsendiagnostik, Bestimmung der 17-Ketosteroide im Urin, Östradiol- Prolaktin-, Gonadotropinbestimmung im Plasma und einen LRH- und TRH-Test.
Die Beurteilung der Gonadotropinwerte erfolgte nach dem Human-Pituitary-Gonadotropin Index (HPGI) in Anlehnung an Keller et.al. (14), seine Definition ist in Tab.1 wiedergegeben. Tab.2 stellt die Aufteilung der drei Unterkollektive AN_s, AN_L und AR bezüglich ihres HPGI und entsprechend der WHO-Klassifikation dar.
Das Patientenkollektiv bestand demnach aus 55,3 % hypogonadotropen und 45,7 % normogonadotropen Frauen, wobei bei den Patientinnen mit schwerem Verlauf die Hypogonadotropen bei weitem überwiegen - es finden sich vorwiegend Indices von B1 - B0. Demgegenüber waren die Gruppen der leichteren Anorexie-Fälle und der anorektischen Reaktion etwa zu gleichen Teilen aus Hypo- und Normogonadotropen zusammengesetzt (10:14 bzw. 25:19).
Die Ergebnisse der übrigen endokrinologischen Untersuchungen, die zu Korrelationsberechnungen mit Androgenkonzentrationen herangezogen wurden, sind im Ergebnisteil beschrieben und ausgewertet.

Tab.1 : Definition des Human-Pituitary-Gonadotropin-Index (HPGI) und Vergleich mit der WHO-Klassifikation der Amenorrhoe

HPGI		WHO-Klassifikation
	Basal-Spiegel (E)	
BI	0 < LH > 50	Gruppe I (hypogonadotrop)
BII	50 ≤ LH > [illegible]0	Gruppe II (normogonadotrop)
BIII	[illegible]0 ≤ LH	
BIV	1000 ≤ LH	Gruppe III (hypergonadotrop)

Stimulationsverhalten nach 25 ug LRH i.v. (R)

R 0 LH-Anstieg netto < 100 = fehlende Stimulierbarkeit
R 1 LH-Anstieg netto ≥ 100 = eingeschränkte Stim.
R 1 LH-Anstieg abs. < 200 = eingeschränkte Stim.
R 2 LH-Anstieg netto ≥ 100 = normale Stimulierbarkeit
R 2 LH-Anstieg abs. < 200 = normale Stimulierbarkeit

Tab.2 : Verteilung des HPGI bei Frauen mit AN_S, AN_L und AR

	AN_S	AN_L	AR	Ges.-Koll.
BI -R 0	n=5	n=2	n=13	n=20
-R 1	n=1	n=0	n= 8	n=12
-R 2	n=1	n=2	n= 7	n=10
BII -R 0	n=1	n=4	n= 3	n= 5
-R 1	n=0	n=7	n= 6	n=13
-R 2	n=0	n=4	n= 5	n= 9
BIII-R 0	n=0	n=1	n= 1	n= 2
-R 1	n=0	n=1	n= 4	n= 5
-R 2	n=0	n=0	n= 0	n= 0
gesamt	n=8	n=24	n=44	n=76

Verteilung nach Basalwerten bzw. WHO-Klassifikation in Prozenten

	AN_S	AN_L	AR	gesamt	
B I	87,5 %	41,6 %	55,5 %	55,3 %	hypogonadotr.
B II	12,5 %	50,0 %	31,0 %	36,5 %	normogonadotr.
B III	-	8,4 %	11,3 %	9,2 %	

2.2. Materialien

2.2.1. Gewinnung der Blutproben

Die hier untersuchten Blutproben von Patientinnen des oben beschriebenen Kollektivs wurden in der Endokrinologischen Sprechstunde der Frauenklinik Tübingen im Rahmen der Durchführung eines LHRH- bzw. eines kombinierten LRH/TRH-Testes gewonnen.
Die Patientinnen wiesen jeweils eine Amenorrhoedauer von mindestens 6 Monaten und ein hormonfreies Intervall von mindestens 3 Monaten auf, die Blutproben wurden aus organisatorischen Gründen am frühen Nachmittag abgenommen.
Durch Punktion der Vena cubitalis wurden ca. 10 ml Blut gewonnen und in heparinisierte Reagenzgläser (Trockenheparin Vetren^{R})aufgefangen. Bei 4000 U/min wurde es 9 Minuten lang zentrifugiert und das abpipettierte Plasma bei -20°C bis zu seiner Bestimmung gelagert.

2.2.2. Apparative Ausrüstung und Glasgeräte

Liquid scintillation counter, Isocap 300, Nuclear Chicago
Rechner Hewlett Packard 9810 A Calculator
Plotter Hewlett Packard 9862 A Calculator Plotter
Kryozentrifuge, Cryofuge 8-6, Heraeus Christ GmbH
Typ Nr. 9412
Vakuumschrank, Typ VT, Heraeus Christ GmbH 5092 EK
Magnetrührer, Cento Instrumenten, Niederlande
Cat.Nr. 34521
Vortex, Cento Instrumenten, Niederlande Cat.Nr. 34524-200
Halbmikroanalysenwaage, Fa. Mettler, Typ B6
Zentrifuge für Eppendorfhütchen, Carstedt, Nürnberg
Nr.515

Rotormixer
Reagenzglasständer verschiedener Größe
Wasserstrahlpumpe
Stativmaterial für Säulen

Reagiergefäße für Mikroliterbestimmungen, Sarstedt, Nürnbrecht Nr.690
Reagenz- und Zentrifugenspitzröhrchen 105 x 16,8mm Nr.57513
Reagenz- und Zentrifugenspitzröhrchen 105 x 16,8mm Nr.57464
Eindrückstopfen Nr.65816
Glasteströhrchen für Zellwaschzentrifuge 75x12mm Merz und Dade GmbH München ,Nr.451300
Zentrifugengläschen mit glattem Rand 112x16/17mm Assistant Nr.938
Verschlußdeckel, Sarstedt,Nürnbrecht, Nr.146
Eppendorfpipetten verschiedener Größe, Eppendorf Gerätebau Hamburg
Pipettenspitzen gelb, Nr.70760
Pipettenspitzen blau, Nr.70752
Mikrokonstriktionspipetten, H.E.Pedersen, Denmark
Auslaufpipetten, Brand
Citopipette DBGM 10ml, Bühler, Nr.1942737
Citopipette DBGP 2ml, Bühler, Nr.1942737
Pasteurpipetten
Polyäthylenzählfläschchen (Polyvials®), Zinsser,Frankfurt, Nr.3071401
Glasgefäße für Säulen

2.2.3. Chemikalien

Aceton	pro analysi	Merck, Darmstadt	Nr.14
Äthanol	"	" "	Nr.972
Diäthyläther	"	" "	Nr.921
Benzol	für d.Spektroskopie	" "	Nr.1779
Isooctan	"	" "	Nr.4718
Methanol	"	" "	Nr.6002
Natriumhydrogenphosphat-1-hydrat	pro analysi	" "	Nr.6346
Natriumchlorid, kristallin	pro analysi	" "	Nr.6404
Extran		" "	Nr.7555
Gelatine, reinst		Serva, Heidelberg	Nr.22151
Glaswatte, reinst, silanisiert	für Gaschromatographie	" "	Nr.22367
Thiomersal		" "	Nr.11375
Norite A		" "	
Dextran T 70		Pharmacia fine chemicals Uppsala, Schweden	Nr.1730
Sephadex LH 20		" "	Nr.7903
Trockeneis		Fa.Agefko, Eyach	
Unisolve 1 emulsifier		Fa.Zinsser	Nr.19927
Vetren, Trockenheparin		Promonta	
Ampuwa, steriles und pyrogenfreies Aqua ad inject.		Fresenius, Bad Homburg	
Filterpapier		Whatman LTD GF/A 1,0	
Filterpapier		Schleicher und Schüll 20 mm	Nr. 589
Parafilm		American.Can.Comp. Dixie/Marathon, Greenwich	

2.2.4. Kristalline Steroide

Die kristallinen Steroide wurden von "Steraloids",Pawling,USA, bezogen und zur Herstellung der Standardlösungen verwendet.

Testosteron (17ß-Hydroxy-4-androsten-3-one) A 6950
Dihydrotestosteron (5ß-Androstan-17ß-ol-e-one) A 3730

2.2.5. Radioaktive Steroide

Die mit Tritium markierten Steroide wurden von der Firma "New England Nuclear" bezogen und als recovery-tracer zur Inkubation, als assay-tracer bei der Durchführung der radioimmunologischen Bestimmung verwendet.

Testosteron 1,2,6,7-^{3}H NET 181 Lot.No.772-222
0,25 mCi/0,0085 mg
in 0,25 ml Benzene/Ethanol (9/1)

Dihydrotestosteron 1,2-^{3}H NET 302 Lot.No.172-063
0,25 mCi/0,0017 mg
in 0,25 ml Benzene/Ethanol

2.2.6. Antikörper

Herstellung: Der für Testosteron und Dihydrotestosteron gemeinsam verwendete Antikörper wurde durch Immunisierung von Neu Seeland Kaninchen gewonnen, denen als Antigen ein an größere Trägermoleküle gekoppeltes Steroid intradermal injiziert wurde. Die AK-Produktion wurde angeregt durch wiederholte Booster-Injektionen, und in regelmäßigen Abständen durch Bestimmung des Antikörper-Titers kontrolliert. Zum Zeitpunkt eines ausreichend hohen Titers wurde Blut durch Punktion der Körperhohlvene gewonnen.

Aufbewahrung: Nach Portionierung in Eppendorf-Hütchen

wurde das Antiserum bis zur Verarbeitung bei -20°C gelagert.

Charakterisierung des Antiserums: Die Kreuzreaktion unter assay-Bedingungen betrug für

Testosteron	100 %
Dihydrotestosteron	70 %
Dehydroepiandrosteron	6 %

bei allen übrigen Steroiden lag sie unter 1%.

Verwendetes Antiserum: Nr.30 vom 25.6.1974.

2.3. Methode

2.3.1. Prinzip des Radioimmunoassay

Die radioimmunologische Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron beruht auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung zweier Substratmoleküle an einem spezifischen Protein. Ein radioaktiv markiertes und ein nicht markiertes Hormon konkurrieren um die Bindung an den Antikörper. Das freie Hormon wird vom ungebundenen Anteil durch Adsorption an Kohle getrennt und nach Zentrifugation verworfen. Durch Messung der Aktivität im Überstand und durch Vergleich mit einer Standard-Eichkurve kann auf die Konzentration des nicht markierten, zu bestimmenden Hormons geschlossen werden.
Die Problematik der radioimmunologischen Bestimmung von T und DHT liegt darin, daß ein spezifischer Antikörper für T und DHT nicht zur Verfügung steht.
Ein Testosteron-Antiserum, welches durch Immunisierung von Versuchstieren gewonnen wird, zeigt eine fast vollständige Kreuzreaktion gegenüber DHT. Daher müssen diese Hormone nach ihrere Extraktion aus dem Plasma vor der eigentlichen Analyse getrennt werden. In dieser Versuchsanordnung wurde dies mittels Säulenchromatographie erreicht.

2.3.2. Herstellung der Ansätze

2.3.2.1. Gelatinepuffer 0,1 %

Als Grundlösung für alle Ansätze wird ein Puffer verwendet, der einmal wöchentlich frisch hergestellt werden sollte. Dieser Gelatinepuffer liegt ein Phosphatpuffer zu Grunde, der aus folgenden Stammlösungen angesetzt wird:

Pufferlösungen:

Stock A: [illegible],99 g NaH_3PO_4, Aqua dest. ad 1000 ml
Stock B: 17,8 g NaH_3PO_4, "
Stock C: 61,36 g NaH_3PO_4, "

Gelatinepuffer:

1 g Gelatine
1 mg Thiomersal
6,6 ml Stock A
[illegible],7 ml Stock B
1[illegible] ml Stock C
auffüllen mit Aqua dest. auf 1000 ml, dabei auf [illegible] achten!

Um eine schnellere und homogene Auflösung zu erreichen, sollten Stocklösungen und Gelatinepuffer im Wasserbad unter Rühren hergestellt werden. Die Aufbewahrung erfolgt bei [illegible] °C, vor ihrer Verwendung müssen die Lösungen Raumtemperatur erreicht haben. Der Gelatinepuffer, welcher im assay als "background" in die Berechnungen miteingeht, sollte im ß-Counter ausgetestet werden und eine Countzahl von ca. 30 cpm nicht überschreiten.

2.3.2.2. dextran-coated-charcoal

In ein 500 ml Becherglas werden gegeben:
2,5 g Norite A
0,25 g Dextran T 70 und
500 ml Gelatinepuffer 0,1%

2.3.2.3. Kalte Standardlösungen

Die zur Erstellung einer Eichkurve benötigten Standardlösungen werden durch Verdünnen einer Stammlösung hergestellt.

Stammlösung (1000pg/100ml)
- Abwiegen von 100 mg der jeweiligen kristallinen Steroide in ein 50 ml-Becherglas auf der Analysenwaage
- Überführen dieser Menge in einen 100 ml-Meßkolben mit Äthanol durch Auflösen und mehrmaliges Nachspülen in

Stammlösung (1000pg/100ml)

- Abwiegen von 100 mg der jeweiligen kristallinen Setroide in ein 50 ml-Becherglas auf der Analysenwaage
- Überführen dieser Menge in einen 100 ml-Meßkolben mit Äthanol durch Auflösen und mehrmaliges Nachspülen in kleinen Portionen
  → Konz.1 : 100mg/100ml
- Verdünnung 1/1000: Überführen von 100 µl aus Konz.1 in einen 100 ml-Meßkolben und Auffüllen mit Gelatinepuffer auf 100 ml
  → Konz.2 : 100ng/100ul
- Verdünnung 1/100: Überführen von 500 µl aus Konz.2 in einen 50 ml-Meßkolben und Auffüllen mit Gelatinepuffer auf 50 ml
  → Konz.3 : 1000pg/100µl = Stammlösung

Aus dieser Stammlösung werden folgende Konzentrationen hergestellt (in 10 ml-Meßkolben) :

- 20 pg/100µl : 200 µl - Auffüllen mit Gelatinepuffer
- 50 pg/100µl : 500 µl - "
- 100 pg/100µl : 1 ml - "
- 200 pg/100µl : 2 ml - "
- 500 pg/100µl : 5 ml - "
- 1000 pg/100µl : Verwendung der Stammlösung

Sämtliche Pipettiervorgänge werden mit Konstriktionspipetten ausgeführt. Die Standardlösungen werden nur kurzfristig zur Entnahme der vorraussichtlich benötigten Menge aus dem Kühlschrank genommen. Vor ihrer Weiterverarbeitung müssen die Standards auf Zimmertemperatur ausgeglichen werden, und vor Versuchsbeginn auf ihre tatsächlichen Konzentrationen ausgetestet werden.

2.3.2.4. Tracerlösungen

Aus den Tracerstammlösungen wird durch unterschiedliche

Verdünnungen zur Inkubation ein Recovery-Tracer, für den eigentlichen Assay ein Assay-Tracer hergestellt.

Recovery-Tracer

-- T : 300 µl der Stammlösung werden mit Konstriktionspipette in einen 10 ml Meßkolben überführt
Auffüllen mit Gelatinepuffer auf 10 ml

-- DHT: 280 µl der Stammlösung werden in der gleichen Weise wie T auf 10 ml aufgefüllt

erwünschte count-Zahl: ca. 1000 cpm/10µl

Assay-Tracer

-- T : 150 µl der Stammlösung werden mit Konstriktionspipette in einen 10 ml-Meßkolben überführt, in welchen vorher 5 ml Gelatinepuffer einpipettiert wurden.
Nachspülen der Pipette durch mehrmaliges Aufziehen von Gelatinepuffer aus dem Meßkolben
Auffüllen mit Gelatinepuffer ad 10 ml

-- DHT: 140 µl der Stammlösung werden in der gleichen Weise wie T mit Gelatinepuffer auf 10 ml aufgefüllt.

erwünschte count-Zahl: ca. 10 000 cpm/100µl

Vor ihrer Verwendung werden der Recovery- und Assay-Tracer im ß-Counter ausgetestet und auf die erwünschte Countzahl eingestellt. Im Falle von Abweichungen müssen die Verdünnungen verändert werden, da aus zu niedrigen Countzahlen eine nicht ausreichende Signifikanz resultieren würde. Bei zu hohen Countzahlen ist die Menge des markierten Hormons zu groß, was eine verminderte Empfindlichkeit der Methode ergibt.

Der Recovery-Tracer kann in entsprechender Menge in einem Ansatz hergestellt werden, der Assay-Tracer sollte vor jedem Durchgang frisch zubereitet werden.

2.3.2.5. Antikörper

Durch Verdünnung der Antikörper-Stammlösung mit Gelatinepuffer werden Konzentrationen hergestellt, welche eine Nullbindung im Bereich von 40-50% ergeben. (Austesten im ß-Counter)
für T : 1:8000
für DHT: 1:4000

2.3.2.6. Fließmittelsystem für Säulentrennung

Folgende Lösungen werden für die mobile Phase des Trennungsganges hergestellt:
-- Solvent 1: Benzol-Methanol im Vol.-Verh. 9:1
-- Solvent 2: Isooctan-Methanol-Benzol im Vol.-Verh.90:5:5
Die Lösungen müssen vor jedem Ansatz frisch zubereitet werden und vor Lichteinwirkung geschützt werden.
In zahlreichen Vorversuchen konnten wir feststellen, daß sich die Hormonkonzentrationen in den einzelnen Sammelfraktionen bei Verwendung von Lösungsmitteln verschiedener Herstellungsfirmen änderte. Sie wurden außerdem durch unterschiedliche Chargen der Lösungsmittel beeinflußt. Um derartigen Veränderungen der Elutionsfraktionen im Verlauf mehrerer Analysen vorzubeugen, sollten für sämtliche Trennungsvorgänge Lösungsmittel derselben Charge verwendet werden.

2.3.2.7. Sephadex-Suspension

Die Sephadex-Suspension bildet die stationäre Phase des Säulen-Trennungsverfahrens. Sie wird am Vorabend vor ihrer Verwendung, jedoch mindestens 4 bis 6 Stunden vorher angesetzt.

Vorschrift für 24 Säulen:
- Abwiegen von 36g Sephadex LH 20 in 300 ml-Meßzylinder
- Auffüllen mit Solvent 1 ad 150 ml (hierbei müssen Luftblasen, die beim Quellvorgang in der Sephadex-Suspension liegenbleiben,durch Rühren mit einer Pasteur-Pipette entfernt werden)
- Verschluß mit Parafilm
- bei Raumtemperatur über Nacht quellen lassen

2.3.3. Vorversuche

2.3.3.1. Überprüfung der Trennungsfraktion

In Vorversuchen müssen die optimalen Elutionsfraktionen für Testosteron und Dihydrotestosteron bestimmt werden. Es werden diejenigen Fraktionen ermittelt, welche die höchste Konzentration an T bei relativ niedrigem Gehalt von DHT und umgekehrt aufweisen.
Zu diesem Zweck wird ein Trennungsgang mit radioaktiv markierten Hormonen in folgender Anordnung durchgeführt:
Beschickung von 6 Säulen mit T
6 Säulen mit DHT
6 Säulen mit T und DHT.
Die Fraktionen werden in Portionen zu 2 ml aufgefangen. Die Relation der Hormonkonzentrationen in den einzelnen Fraktionen wird im ß-Counter ermittelt, unsere Ergebnisse sind in Diagramm 1 dargestellt.
Dieses Schema liegt dem eigentlichen Trennungsgang zugrunde.

2.3.3.2. Kontrollseren

Zur Qualitätskontrolle, speziell von Präzision und Richtig-

keit der radioimmunologischen Bestimmung wird ein weibliches Kontrollserum verwendet.
Es werden zwei Plasmapools angesetzt, von denen einer zur Bestimmung des Sollwertes dient. Der andere Teil wird portioniert, bei -20°C gelagert und den einzelnen assays als Kontrollserum beigefügt.
Die beiden Plasmapools bestehen aus:
-- Kontrollserum 1 : Normalplasma, dessen Grundkonzentration an T und DHT bestimmt wird
-- Kontrollserum 2 : Normalplasma mit Zusatz von 1000pg/ml T und DHT aus einer Standardlösung
≙ Wiederfindung (zur Bestimmung der Richtigkeit)

Herstellung des Kontrollserums 2:
Die voraussichtlich benötigte Menge an Plasma betrug in unserem Fall 12 ml
(10 Proben a 1ml zur Sollwertbestimmung und
2 Proben a 1ml zur Wiederfindung für 2 assays)
Diesem Normalplasma, dessen Grundkonzentration an T und DHT aus Kontrollserum 1 bekannt ist, werden 1,2 ml der Standardlösung 1000 (1000pg/100µl) von Testosteron und Dihydrotestosteron zugesetzt. Hieraus ergibt sich für Kontrollserum 2 eine um 1000pg/ml höhere Konzentration an T und DHT gegenüber Kontrollserum 1.

2.3.3.3. Normalwerte

Da die in der Literatur angegebenen Normalbereiche in Abhängigkeit von ihrer Bestimmungsmethode starke Schwankungen aufweisen, bestimmten wir die Plasmakonzentrationen von T und DHT bei einem Normalkollektiv.
24 gesunden Frauen im Alter zwischen 20 und 40 Jahren mit normalem Zyklus wurde zwischen dem 5. und 10. bzw.

dem 18. und 28. Zyklustag Blut abgenommen. Ihr Plasma wurde analog dem unserer Patientinnen gelagert und verarbeitet.

2.3.4. Durchführung des Radioimmunoassay

2.3.4.1. Inkubation

Am Vorabend der Säulentrennung werden 46 Patientenseren und 2 Kontrollseren auf Raumtemperatur gebracht und anschließend mit jeweils 10 µl T-Recoverytracer und DHT-Recoverytracer versetzt (nach Temperaturausgleich). Dieser Vorgang wird mit zwei Konstriktionspipetten durchgeführt. Dabei muß eine Kontamination der zweiten Pipette mit dem an der Wand haftenden Tracer aus dem vorherigen Pipettiervorgang vermieden werden.
Tracer und Plasma werden durch ausgiebiges Vortexen gemischt, die Proben mit Parafilm abgedeckt und über Nacht bei 4°C im Kühlhaus inkubiert.
Zu diesem Zeitpunkt werden außerdem pro Hormon je 4 vials zur Bestimmung des Recovery-100%-Wertes nach folgender Vorschrift pipettiert: 10 ml Scintillation liquid
10 ml Recovery-Tracer
300µl Äthanol
Die vials werden kräftig geschüttelt und bis zur Bestimmung im Counter gelagert.

2.3.4.2. Extraktion

Am folgenden Morgen werden den Proben nach Temperaturausgleich 4 ml Diäthyläther mit einer Citopipette zugesetzt. Nach Verschluß der Röhrchen mit sehr dicht

schließenden Deckeln müssen die Proben wegen des niedrigen Siedepunktes des Äthers 5 Minuten lang im Kühlhaus abgekühlt werden. Anschließend wird eine Stunde lang auf dem Rotormixer extrahiert.
Durch Zentrifugieren (20 min bei 4000 U/min) wird die organische, das Hormon enthaltende Phase von der wässrigen getrennt. Nach Einfrieren der wässrigen Phase im Trockeneis-Aceton-Bad (5 min) kann der organische Überstand in Assay-Röhrchen dekantiert werden.
Diese Ätherphase wird im Vakuum-Wärmeschrank bei 30°C eingedampft. Eventuell auftretende Siedeverzüge können durch sofortige Druckregulation unter Kontrolle gehalten werden.
Die trockenen Assay-Röhrchen werden mit 1 ml Diäthyläther nachgespült und wieder eingedampft, dieser Vorgang wird noch einmal mit 0,5 ml Äther wiederholt.

2.3.4.3. Säulenchromatographische Trennung

Vorbereitung der Säulen
Die Präparation der Säulen läuft parallel zur Hormonextraktion. Ihre Spitze wird mit Glaswatte locker gestopft, um ein Durchlaufen der Sephadexsuspension zu verhindern, und mit einer Filterpapierscheibe (Schleicher-Schüll) abgedeckt. Mit einer Citopipette werden die Säulen mit jeweils 3 ml Solvent 1 angefeuchtet. Dieser Vorgang wird unmittelbar vor dem Einpipettieren der Sephadexsuspension wiederholt.
Die über Nacht gequollene Sephadexsuspension wird mit Solvent 1 auf 180 ml aufgefüllt und 15 Minuten lang auf einem Magnetrührer gemischt. Daraufhin kann die nun homogene Suspension mit einer 10ml-Pipette in die Säulen einpipettiert werden (jeweils einmal vorspülen und einmal nachspülen mit Solvent 1).
Nach Auffüllen aller Säulen wird zweimal mit 3 ml Solvent 1 nachgespült, dann müssen die Säulen leerlaufen.

Anschließend wird solange Solvent 2 in Portionen von 3 ml aufgetragen, bis die Säulenfüllung homogen erscheint (durchschnittlich sechs mal).
Mit dem Abdichten der Säulen durch eine Filterpapierscheibe Rottman 1,0 CM3 ist die Vorbereitung zur Hormonextraktion abgeschlossen.

Auftrag der Hormone

Der Auftrag der Hormone gliedert sich in drei Schritte, wobei die Pipettiervorgänge werden mit Eppendorfpipetten durchgeführt.

- Das von der Extraktion her eingedampfte Hormon wird in 2 x 100 µl Solvent 2 gelöst, was jeweils auf dem Vortex gemischt und in zwei Portionen auf die zuvor mit 200 µl Solvent 2 angefeuchtete Säule übertragen.
- Eventuell zurückgebliebene Hormonreste werden ein zweites Mal mit 2x100 µl Solvent 2 aufgelöst, gevortext und wiederum in zwei Portionen aufgetragen.
- Schließlich wird das Assay-Röhrchen mit 100 µl Solvent 2 nachgespült und die Lösung sofort auf die Säule übertragen.

Die Gesamtmenge Solvent 2, in welcher die Hormone gelöst werden, beträgt demnach pro Säule 500 µl.

Elution und Sammlung der Fraktionen

Entsprechend den in Vorversuchen ermittelten Fraktionen (siehe 2.3.3.1.) werden die Hormone in insgesamt 25 ml Solvent 2 eluiert und gesammelt.

-- Vorlauf: 12 ml (4x3ml mit Citopipette)
nach dem Vorlauf, der verworfen wird, laufen die Säulen leer.
Anschließend wird in Zentrifugengläschen aufgefangen:
-- 1.Sammelfraktion: DHT 7 ml (2x2ml und 1x3ml)
-- Zwischenlauf: 3 ml
nach dem Zwischenlauf, der verworfen wird, laufen die Säulen leer.

Anschließend wird in Zentrifugengläschen aufgefangen:

2.Sammelfraktion: T: 7 ml (2x2ml und 1x3ml)

Sämtlich Pipettiervorgänge werden mit Citopipette durchgeführt. Die gesammelten Fraktionen werden über Nacht im Vakuumschrank eingedampft.

Portionieren für Recovery und Assay

Die eingedampften Hormone werden am nächsten Morgen unter ausgiebigem Mischen auf dem Vortex in 1ml Äthanol gelöst. Diese Menge portioniert man in zwei mal 300 µl für die Doppelbestimmungen im Assay und weiteren 300 µl für die Bestimmung der zugehörigen Recovery.

-- 2x300µl werden mit Eppendorf-Pipetten in Assay-Röhrchen einpipettiert,anschließend im Vakuumschrank eingedampft
Die weitere Verarbeitung wird unter 2.3.4.1. beschrieben

-- 1x300µl werden für die Recovery direkt in mit Scintillation-Liquid gefüllte vials (10ml) einpipettiert.Die vials werden bis zu ihrer Zählung bei Zimmertempereatur aufbewahrt.

2.3.4.4. Radioimmunologische Bestimmung

2.3.4.4.1. Inkubation

Von allen Analysenproben werden Doppelbestimmungen, von den Standards Dreifachbestimmungen durchgeführt.
Zur Berechnung der absoluten Hormonkonzentration ist es erforderlich, die durch den Gelatinepuffer vorgegebene Grundaktivität, die totale Aktivität des Tracers und seine unspezifische Bindung an Proteinbestandteile des Puffers etc. zu ermitteln.
Deshalb werden zusätzlich Assay-Röhrchen als BG (back-

ground), als T (total counts) und als NS (non specific) in der unten beschriebenen Weise einpipettiert.

Pipettiervorschrift für Assay (siehe Diagramm 2)

3 x BG: 800 µl Gelatinepuffer

6 x T : 700 µl " + 100 µl Tracer

3 x NS: 200 µl " + 100 µl "

Standards: jeweils 3 Assay-Röhrchen

0 :100 µl Gelatinepuffer + 100 µl Tracer + 100 µl AK

20 :100 µl Standard 20 " "

50 :100 µl Standard 50 " "

100 :100 µl Standard 100 "

200 :100 µl Standard 200 " "

500 :100 µl Standard 500 " "

1000 :100 µl Standard 1000 " "

Analysenproben: 100 µl Gelatinepuffer

Die [illegible] in der Reihenfolge Gelatinepuffer-Tracer - Antikörper (AK) einpipettiert, sämtliche Pipettiervorgänge werden mit Eppendorf-Pipetten ausgeführt. Die Analysenproben werden nach Zugabe des Gelatinepuffers [illegible] auf dem Vortex gemischt, nach Zugabe von Tracer und Antikörper nochmals gemischt.

Anschließend wird der ganze Assay über Nacht (16 Std. lang) bei 4°C im Kühlhaus inkubiert.

2.2.4.4.2. Abstoppvorgang

Der Vorgang des Abstoppens dient dazu, den Antigen-Antikörper-Komplex vom nicht gebundenen Hormon zu trennen. In dieser Versuchsanordnung wird dazu eine Kohle-Suspension verwendet, durch welche das nicht an Antikörper gebundene Hormon adsorbiert wird.

Nach 16 Std. Inkubationszeit wird der Assay bei 4°C mit dextran-coated-charcoal abgestoppt.

500 µl dieser Kohlesuspension werden mittels einer Repetierspritze einpipettiert, das Assay-Inkubat daraufhin

kurz auf einem Vortex gemischt und in vorgekühlten Zentrifugenbehältern genau 15 Minuten lang inkubiert. Anschließend werden die Proben in der Kühlzentrifuge bei 4°C und 4000 U/min.zentrifugiert, wobei sich die Kohlephase von der den AG-AK-Komplex enthaltenden Phase trennte.

2.3.4.4.3. Dekantiervorgang

Der Überstand aus den zentrifugierten Gläschen wird in vials dekantiert, die 10 ml Scintillation liquid enthält. Dieses Abgießen muß sehr vorsichtig gehandhabt werden, da sich bei zunehmender Erwärmung der Zentrifugengläschen das Kohlesediment auflockert und dann teilweise mitüberführt wird.
Die vials werden verschlossen und eine Minute lang kräftig geschüttelt.

2.3.4.4.4. Messung der Radioaktivität

Im ß-Counter werden die radioaktiven Impulse der Recoveryvials, der 100%-Recovery und der Assay-vials gezählt. Sämtliche vials müssen vor dem Zählvorgang eine Stunde lang ruhig im Counter stehen. Die Zählzeit der Recoveryproben beträgt wegen der geringen Zerfallszahl von 200 bis 600 cpm jeweils 10 Minuten pro vial, die Assay-vials werden zwei Minuten lang gezählt.

2.3.4.5. Auswertung

Wir berechneten die unbekannten Hormonkonzentrationen mit Hilfe eines Hewlett Packard Tischrechners, dem ein für diesen Hormonassay spezifisches Rechenprogramm eingegeben war. Durch Koppelung des Rechners mit einem Plotter konnten zusätzlich die Standardkurven aufge-

zeichnet werden.
Die Hormon (=Antigen)konzentrationen werden durch Interpolation der im Assay gemessenen Counts an einer Eich-
[illegible] ermittelt.

[illegible] der Eichkurve:

Zur Erstellung einer Eichkurve werden in der oben beschriebener Weise (2.3.4.1.) folgende Assay-Inkubate angesetzt und gezählt: BG (Background)
T (Total counts)
NS (Non specific bound)
Leerwert (Standard 0)
Standards 20-1000

In die Berechnung der Standardkurve gehen folgende Konzentrationsverhältnisse ein:
B /T (Nullbindung)
[illegible] /T
[illegible] B/T

dabei bedeuten: T - Gesamtaktivität des markierten Hormons
B - Konz. des AK-gebundenen markierten Hormons im Leerwert (in Abwesenheit von unmarkiertem Hormon)
B - Konz. des AK-gebundenen markierten Hormons in Standardproben (in Gegenwart von unmarkiertem Hormon)
NS- Konz. des nicht spezifisch gebundenen, d.h. an Proteinbestandteile des Puffers, an Glaswände etc. adsorbierten Hormons (in Abwesenheit von AK und unmarkiertem Hormon)

Außerdem muß die Grundaktivität des Lösungsmittels berücksichtigt werden, da hieraus resultierende Verfälschungen einen wesentlichen systematischen Fehler der Methode ausmachen.
Aus obigen Quotienten läßt sich nun das Verhältnis von

gebundenem zu freiem markierten Hormon bei unterschiedlichen Konzentrationen an unmarkiertem Hormon berechnen (Quotient (B/F).
Wie bei Rodbard et al. (1968,1972) beschrieben, ist es zur Erstellung einer Eichkurve günstiger, nicht das Verhältnis (B/F), sondern den Quotienten (B/T) zu verwenden. Dieser gibt die Relation von gebundenem Hormon zu totaler Konzentration wieder,d.h. den prozentualen Anteil an gebundenem Hormon.
Dieses Verfahren hat mehrere Vorzüge: es ermöglicht eine von 0 bis 100% standardisierte Skala, der Fehler im Nenner (in der Konzentration T) ist relativ gering und zudem unabhängig vom Gleichgewichtszustand gebundenes / freies Hormon. Insgesamt ist das Verhältnis (B/T) "stabiler" als (B/F).

Aufzeichnung der Eichkurve:

Auf der Ordinate werden die Countzahlen entsprechend dem prozentualen Anteil an gebundenem, markierten Hormon (B/T) aufgetragen, auf der Abszisse die zugehörige Konzentration an Standardhormon (Diagramm 2.1.).
Eine Linearisierung der Eichkurve wird durch die sogenannte Logit-Log-Transformation ermöglicht. Hierbei wird der Logit Y (=2.303 log B/T) gegen den Logarithmus der Hormonkonzentration aufgetragen. Daraus ergibt sich für die Steigung der Kurve unter optimalen Bedingungen (Vollsättigung des Antikörpers, ideale Nullbindung von 40 bis 50%) ein Wert von -2.303.

Berechnung der Hormonkonzentration:

Die Hormonkonzentrationen der Patientenproben werden bestimmt, indem die Mittelwerte der Doppelbestimmungen an der Eichkurve interpoliert werden. Sie müssen mit einem Volumfaktor aus den zugehörigen Recoverys multipliziert werden, um Verluste während der Aufbereitung der Proben auszugleichen.

2.3.5. Kriterien für die Brauchbarkeit des RIA

Kriterien für die Brauchbarkeit eines RIA umfassen
a) die Zuverlässigkeit
b) die Praktikabilität

a) Zuverlässigkeit

Die Zuverlässigkeit einer Methode wird kontrolliert an Hand der Spezifität, der Richtigkeit, der Präzision und der Sensitivität.

Spezifität

Die Spezifität eines RIA wird beeinträchtigt durch Interferenzen des Antikörpers mit verschiedenen Hormonen.
Da der hier verwendete Antikörper ähnliche relative Bindungsaffinitäten für T und DHT und außerdem Kreuzreaktionen mit anderen Steroiden aufweißt, wurde eine Selektion der Steroide durch säulenchromatographische Trennung vorgenommen.

relative Bindungsaffinität für T:	100 %
Kreuzreaktion mit DHT:	70 %
" DHEA:	6 %
" mit anderen Steroiden:	1 %

Richtigkeit

Die Richtigkeit wird kontrolliert durch eine möglichst authentische Messung der wahren Konzentration einer Probe [illegible]

[illegible]

T : [illegible] ± [illegible]
DHT: 84,05 ± 9,71 % [illegible]

Präzision

Die Präzision wird bestimmt durch

- Mehrfachbestimmungen derselben Probe innerhalb eines Assays = inner-Assay-Varianz
- Bestimmungen derselben Probe in verschiedenen Assays = inter-Assay-Varianz

Sie drückt sich aus im Variationskoeffizient.

- inner-Assay-Varianz: 10fach-Bestimmungen eines Normalplasmas (siehe 2.3.3.2.)
  T : 6 %
  DVT: 4,5 %
- inter-Assay-Varianz: Bestimmung von Kontrollseren bekannter Konzentration (siehe 2.3.3.2.)
  T : 11 %
  DVT: 14 %

Sensitivität

Die Empfindlichkeit ist definiert als die geringste Konzentration, welche signifikant von Null verschieden gemessen werden kann.

Sie ist nach Abraham einerseits abhängig von der Empfindlichkeit der Standardkurve, d.h.
der Bindungsaffinität des Antiserums,
der Menge an Tracer und Antiserum,
dem Volumen des Inkubationsmediums und
der Präzision des Assays.

Andererseits wird sie beeinflußt von Faktoren des biologischen Systems, in welchem die Steroide bestimmt werden, zum Beispiel -"Blank"-Werten des Puffersystems und
- Trennungsmethode des gebundenen vom freien Hormon.

Als Index für die Empfindlichkeit der hier beschriebenen Methode wurde der Konzentrationswert bei 85%-Bindung herangezogen. Es ergab sich demnach eine theoretische

Empfindlichkeit des durchgeführten Assays von
9,83 pg/100µl für T und
24,75 pg/100µl für DHT.

b) Praktikabilität

Die Durchführung eines RIA nach der oben beschriebenen Methode erfordert die Zusammenarbeit von mehreren erfahrenen und eingearbeiteten Laboranten. Der Zeitaufwand ist vor allem infolge der säulenchromatographischen Trennung relativ groß und verschieden Arbeitsgänge laufen gleichzeitig ab.
Hierzu einige Beispiele:
- während der Hormonextraktion müssen die Säulen für das Trennungsverfahren präpariert und dauernd feucht gehalten werden
- der Hormonauftrag sollte zu zweit ausgeführt werden, da er möglichst rasch ablaufen sollte, um ein gleichmäßiges Eluieren der Säulen zu ermöglichen
- beim Abstoppvorgang des Assays muß eine Inkubationszeit von genau 15 Minuten für sämtliche Proben eingehalten werden - deshalb muß das Einpipettieren der Kohle und der sofort anzuschließende Mischvorgang sehr schnell ablaufen.

Für einen vollständigen Versuchsdurchgang wurden einschließlich des Zählens der Proben im Counter drei Tage benötigt:
- Vorabend : Inkubation
- 1.Tag : Extraktion - Säulentrennung
  Eindampfen der Proben über Nacht
- 2.Tag : Portionierung - Eindampfen - Pipettieren des Assays
  Inkubation über Nacht
- 3.Tag : Abstoppvorgang - Zählen im Counter

Pro Durchgang konnten jeweils 46 Patientenproben und

zwei Kontrollseren bestimmt werden. Diese Zahl war vorgegeben durch die Anzahl verfügbarer Säulen in einer Spezialhalterung, die eigens für diese Art der Hormontrennung konstruiert worden war.

Insgesamt bestand ein Assay aus 96 (48 Doppelbestimmungen)
+ 33 (Werte f.Eichkurve)
= 129 Inkubaten.

Diese Anzahl wurde limitiert durch die Zahl an Gläschen, welche die Kühlzentrifuge aufnehmen konnte.

3. ERGEBNISSE

3.1. Vorversuche : Normalwerte von T und DHT

Bei 24 gesunden Frauen im Alter von 20 bis 40 Jahren wurden die Plasmakonzentrationen von T und DHT in der Follikel- bzw. Lutealphase bestimmt.

Es ergaben sich folgende Durchschnittswerte

für die Follikelphase:	T	:	200,4 ± 108,6 pg/ml
	DHT	:	317,8 ± 102,7 pg/ml
für die Lutealphase :	T	:	189,5 ± 72,1 pg/ml
	DHT	:	305,8 ± 79,4 pg/ml
für den Gesamtzyklus :	T	:	194,9 ± 89,1 pg/ml
	DHT	:	309,9 ± 89,2 pg/ml

Diagramm 3 veranschaulicht die Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT in einem Normalkollektiv von 24 Frauen.

3.2. Hauptversuche

Die im Text angegebenen Werte bedeuten jeweils x ± SEM, die statistische Auswertung erfolgte mittels ungepaartem student-t-test und linearer Regression.

3.2.1. Werte der T- und DHT-Konzentrationen

3.2.1.1. Mittelwerte

Die Plasmakonzentrationen von Testosteron und Dihydrotestosteron betrugen im Durchschnitt des Gesamtkollektivs

für T : 213,39 ± 96,13 pg/ml n= 100
für DHT : 270,48 ± 112,07 pg/ml n= 101

Diagramm 4 veranschaulicht die Häufigkeitverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT im untersuchten Kollektiv.

95% der Patientinnen lagen bezüglich ihres T-Wertes im Bereich der Norm, 88% wiesen normale DHT-Werte auf. 77% dieser DHT-Konzentrationen fanden sich in der unteren Hälfte des Normalbereichs.
Für DHT wurden in jeweils 6% der Fälle erhöhte bzw. erniedrigte, für T in 5% erhöhte Konzentrationen gemessen. Dieser oberhalb des Normbereichs liegende Anteil setzte sich für T und für DHT fast ausschließlich aus Proben des Kollektivs AR zusammen. Ein Vergleich der zugehörigen klinischen Daten ergab gegenüber den restlichen, im Normbereich liegenden Proben keine Auffälligkeiten.

In Diagramm 5 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT im Vergleich zum Normalkollektiv dargestellt.

Tab.3 zeigt die Mittelwerte der Hormonspiegel in den Kollektiven AN_S, AN_L und AR.

	T	DHT
AN_S n= 10	195,2 ± 151,53	268,1 ± 127,95 pg/ml
AN_L n= 31	199,6 ± 66,66	267,0 ± 89,7 pg/ml
AR n= 61	223,1 ± 97,78	272,6 ± 120,73 pg/ml

Im Vergleich der Einzelkollektive AN_S, AN_L und AR ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der T- und DHT-Konzentrationen.
Diagramm 6 veranschaulicht die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Konzentrationen von T und DHT in den Kollektiven AN_S, AN_L und AR.

3.2.1.2. Streuung der Werte im Gesamtkollektiv und den Einzelkollektiven

Die Konzentrationen von Testosteron bewegten sich in einem Bereich von 85 bis 610 pg/ml, der Median lag bei 198,5 pg/ml.
Für die Ranglisten der Einzelkollektive ergaben sich folgende Werte:

AN_S : 89-589 pg/ml Median bei 143 pg/ml n= 10
AN_L : 80-339 pg/ml " " 199 pg/ml n= 31
AR : 65-610 pg/ml " " 209,5 pg/ml n= 61

Die DHT-Konzentrationen wiesen eine Streuung von 102 bis 629 pg/ml auf, die Ranglisten der Einzeikollektive umfaßten folgende Bereiche:

AN_S : 160-509 pg/ml Median bei 268,1 pg/ml n= 10
AN_L : 107-477 pg/ml " " 267,0 pg/ml n= 31
AR : 102-629 pg/ml " " 244,0 pg/ml n= 61

Die Bereiche oberhalb und unterhalb der 10- bzw. 90-Perzentile der Rangliste des Gesamtkollektivs beinhalteten die im folgenden beschriebenen Werte.

Tab.4 10- und 90-Perzentile der Ranglisten T und DHT

	T	DHT
10-Perz.	85 -107 pg/ml n=10	102-144 pg/ml n=10
90-Perz.	300 -610 pg/ml n=10	390-629 pg/ml n=10

In 6 von 10 Fällen lagen sowohl der T- als auch der DHT-Wert unterhalb der 10-Perzentile, im Bereich oberhalb der 90-Perzentile kam es in 5 von 10 Fällen zu Überschneidungen.

Bei Betrachtung dieser Perzentilen im Hinblick auf ihre Zusammensetzung durch die Teilkollektive AN_S, AN_L und AR ergibt sich folgende Aufschlüsselung:

		T	DHT
10-Perz.	AN_S:	40% (n=4)	-
	AN_L:	20% (n=2)	30% (n=3)
	AR :	40% (n=4)	70% (n=7)
90-Perz.	AN_S:	10% (n=1)	20% (n=2)
	AN_L:	20% (n=2)	20% (n=2)
	AR :	70% (n=7)	60% (n=6)

Der Bereich unterhalb der 10-Perzentile setzte sich für Testosteron zu 60% aus Proben des Kollektivs AN (AN_S+AN_L) zusammen, während oberhalb der 90-Perzentile Fälle von AR überwiegen. Für DHT stellen Proben des Kollektivs AR sowohl ober- als auch unterhalb der 90- bzw. 10-Perzentile den größten Anteil.

Tab.5 gibt den prozentualen Anteil der Einzelkollektive wieder, der außerhalb der 10- bzw.90-Perzentile rangiert.

		10-Perz.	90-Perz.
T	AN_S (n=10)	40 % n=4	10 % n=1
	AN_L (n=31)	6,5 % n=2	1 % n=2
	AR (n=61)	6,5 % n=4	11,5 % n=7
DHT	AN_S (n=10)	- -	20 % n=2
	AN_L (n=31)	9,7 % n=3	6,5 % n=2
	AR (n=61)	11,5 % n=7	9,8 % n=6

Ein Vergleich von außerhalb der 10- bzw. 90-Perzentile liegenden Proben mit den zugehörigen klinischen Daten bezüglich Hirsutismus und Akne ergab gegenüber dem restlichen Anteil keine auffälligen Verteilungen: 3 von 11 Patientinnen mit Hirsutismus und Akne lagen in ihrem DHT-Wert oberhalb der 90-Perzentile. Ebensoviele Patientinnen mit Hirsutismus oder Akne wiesen T- und DHT-Konzentrationen unterhalb der 10-Perzentile auf.

3.2.1.3. Konzentrationsverhältnisse von T und DHT

Das Verhältnis der mittleren Konzentrationen von Testosteron zu Dihydrotestosteron betrug im Gesamtkollektiv 1:1,39 und lag damit über dem im Normalkollektiv ermittelten Durchschnittswert von 1:1,74.
Im Vergleich der Einzelkollektive verschob sich das Verhältnis T:DHT zu höheren Werten bei abnehmendem Schweregrad der Erkrankung :

für AN_S:: T:DHT = 1:1,59
für AN_L: T:DHT = 1:1,35 und
für AR : T:DHT = 1:1,25.

Bei allen Patientinnen mit Anorexia nervosa und anorektischer Reaktion korrelierten die Konzentrationen von T und DHT in statistisch signifikanter Weise ($r=0.59$, $p<0.001$). Die Signifikanzgrade beliefen sich im Kollektiv AN_S mit $r=0.61$ auf $p<0.05$, bei An_L auf $p<0.05$ ($r=0.51$), für AR ergab sich ein Signifikanzniveau von $p<0.001$ bei $r=0.64$.

3.2.1.4. Beziehungen zwischen T/DHT und Körpergewicht bzw. Gewichtsverlust

Vergleiche der T- und DHT-Konzentrationen mit dem Körpergewicht der Patientinnen zeigten eine Tendenz zu steigenden Werten von DHT bei abnehmendem Absolutgewicht im Kollektiv AN_S ($r=-0.68$, $p<0.05$).
Dies bestätigte sich in Korrelationsberechnungen von DHT zu Körpergewicht in Prozent vom Idealgewicht ($r=-0.6$, $p<0.05$). Für eine Korrelation von T und Körpergewicht ergab sich ein Koeffizient von $r=-0.46$ bei Patientinnen desselben Kollektivs.
Der maximale Gewichtsverlust von Patientinnen mit AN_S, ausgedrückt in Prozent ihres ursprünglichen Gewichts, korrelierte signifikant mit entsprechenden Konzentrationen von T und DHT ($r=0.8$, $p<0.05$ für T und $r=0.75$, $p<0.05$ für DHT).
Für den aktuellen Gewichtverlust (zum Zeitpunkt der Untersuchung) in Prozent des Maximalgewichtes ergaben sich statistisch signifikante Korrelationen zu DHT im Kollektiv AN_S ($r=0.76$, $p<0.05$) und ein Korrelationskoeffizient von $r= 0.48$ für T.

3.2.2. Werte der zusätzlich bestimmten Hormonkonzentrationen im Vergleich zu T und DHT

a) A, DHEA

Die Konzentrationen von Androstendion und Dehydroepiandrosteron im Plasma wurden mittels RIA nach der von Holzer (43) beschriebenen Methode bestimmt.
Im Vergleich zu Konzentrationen von T und DHT ergaben sich statistisch signifikante Korrelationen für DHT und A bei Patientinnen mit AN_S ($r=0.65$, $p<0.05$) und solchen mit AR ($r=0.59$, $p<0.001$).
Im Kollektiv AN_S korrelierten Werte von T signifikant mit entsprechenden Konzentrationen von A ($r=0.74$, $p<0.02$).
Der Korrelationskoeffizient von T zu A für das Gesamtkollektiv betrug $r=0.45$ ($p<0.001$).

b) Gonadotropine

LH und FSH im Plasma wurden radioimmunologisch mit der Doppelantikörpermethode bestimmt, LHRH-Tests in der üblichen Weise mit 25 µg synthetischem LHRH i.v. durchgeführt.
Tab.6 gibt die Mittelwerte der Gonadotropinbasal- und Stimulationskonzentrationen im Gesamtkollektiv und den Teilkollektiven AN_S, AN_L und AR wieder (Konz. in ng LER 907/ml)

	Ges.K.	AN_S	AN_L	AR
LH_B	32,14	21,7	34,06	40,67
$LH_{25'}$	227,2	98,9	219,04	363,6
$LH_{45'}$	206,92	110,5	187,38	322,89
$LH_{25'/45'}$		1,06	0,88	0,97
FSH_B	162,69	116,67	206,87	164,53
$FSH_{25'}$	304,11	233,75	358,64	319,94
$FSH_{45'}$	321,9	245,9	358,1	361,7
$FSH_{25'/45'}$		1,19	1,01	1,07

Fortsetzung Tab.6

	Ges.K.	AN_S	AN_L	AR
FSH/LH_3		5,03	7,43	5,29
FSH/$LH_{25'}$		4,10	2,27	2,16
FSH/$LH_{45'}$		4,49	2,55	2,70

Die Patientinnen mit AN_S wiesen neben sehr niedrigen basalen LH-Werten eine weitgehende Einschränkung ihrer LH-Stimulierbarkeit nach LHRH auf. Die maximalen LH-Konzentrationen im LHRH-Test wurden im Gegensatz zu den übrigen Kollektiven erst nach 45 Minuten erreicht ($p<0.005$ für $LH_{45'}$ bei AN_S gegenüber AN_L).
Die Basalwerte stiegen in den Gruppen AN_L und AR deutlich an, die zugehörigen Stimulationswerte nach 25 Minuten lagen für AN_L signifikant über den bei AN_S ermittelten Konzentrationen ($p<0.05$).
Ebenso ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Werten des Kollektivs AN (AN_S+AN_L) gegenüber solchen von AR ($p<0.02$). Entsprechendes gilt für die Stimulationswerte nach 45 Minuten ($p<0.02$).

Die basalen FSH-Spiegel des Kollektivs AN_S lagen signifikant unter denen der Gruppe AN_L ($p<0.05$). Ihre FSH-Stimulierbarkeit nach 25 und 45 Minuten war deutlich vermindert und signifikant verschieden von den bei AN_L und AR gefundenen Werten ($p<0.02$).
Entsprechend den Ergebnissen für LH erreichten auch hier die FSH-Konzentrationen im LHRH-Test bei An_S ihre höchsten Stimulationswerte erst nach 45 Minuten, während sie in den Gruppen AN_L und AR bereits nach 25 Minuten nachweisbar waren. Dementsprechend ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied der Quotienten aus FSH-Werten nach 45 und 25 Minuten zwischen den Kollektiven AN_S und AN_L ($p<0.01$).
Daraus resultiert eine nur geringe Verminderung des

FSH/LH-Quotienten 25 Minuten nach LHRH-Injektion gegenüber dem basalen Quotienten bei Patientinnen mit AN_S. Für Frauen aus den Gruppen AN_L und AR war ein signifikanter Abfall dieses Quotienten bereits 25 Minuten nach Stimulation zu erkennen (FSH/LH : FSH/LH für AN_L gegenüber AR $p<0.001$). Für die basalen FSH/LH Quotienten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Teilkollektiven.

Im Vergleich mit Konzentrationen von T und DHT erwiesen sich in der Gruppe AN_S Korrelationen zwischen T und basalen FSH-Werten als hoch signifikant ($r=0.92$ $p<0.001$). Für DHT konnte in dieser Hinsicht bei $r=0.57$ keine Signifikanz nachgewiesen werden. Bei denselben Patientinnen korrelierte die maximale FSH-Stimulierbarkeit sowohl mit T als auch mit DHT ($r=0.77$ $p<0.02$ und $r=0.79$ $p<0.02$). Ebenso war die Korrelation von T und basalen FSH/LH Quotienten in dieser Gruppe signifikant ($r=0.8$ $p<0.02$).

c) Östrogene

Die radioimmunologisch ermittelten Plasma-Östradiolwerte lagen bei Patientinnen mit AN_S bei einem Mittelwert von $18,67 \pm 12,39$ pg/ml signifikant unter den für AN_L und AR bestimmten Konzentrationen ($34,37 \pm 23,15$ für AN_L und $34,88 \pm 31,0$ für AR, $p<0.05$).
Die Tendenz zu höheren Werten von Östradiol entspricht der oben beschriebenen, zunehmenden Stimulierbarkeit von FSH und LH im LHRH-Test bei AN_L und AR.
Im Vergleich mit Testosteronkonzentrationen ergab sich im Kollektiv AR ein Korrelationskoeffizient von -0.52, eine statistisch verwertbare Signifikanz konnte nicht nachgewiesen werden.

d) Prolaktin

Die Prolaktinkonzentrationen wurden entsprechend den Gonadotropinwerten radioimmunologisch bestimmt.

Für das Gesamtkollektiv ergab sich ein Mittelwert von 7,16 ng/ml. Patientinnen mit anorektischer Reaktion wiesen bei einer durchschnittlichen Konzentration von 1,2 ng/ml signifikant niedrigere Plasmaspiegel als solche der Gruppen AN_S und AN_L auf (7,1ng/ml für AN_S und 10,35ng/ml für AN_L, $p<0.05$).

e) Cortisol

Die mit Hilfe eines industriellen RIA-Kits ermittelten Konzentrationen von Cortisol lagen bei einem Durchschnittswert von 109,8 ng/ml im Normalbereich, ein Vergleich der Einzelkollektive ergab keinerlei Unterschiede. Bei Patientinnen mit Anorexia nervosa, die bereits unter Therapie standen (AN_L) betrug der Korrelationskoeffizient für Cortisol/T $r=0.67$.

f) TSH, T_3, T_4

Tab.7 gibt die für TSH, T_3 und T_4 in RIAs ermittelten basalen und im TRH-Test stimulierten Plasmakonzentrationen in den Kollektiven AN_S, AN_L und AR wieder (Konz. in ng/ml)

	AN_S	AN_L	AR
T_3	60,00±14,16	84,73±18,62	81,95±16,34
T_4	5,18± 2,13	6,02± 1,45	5,53± 1,2
TSH_3	3,92± 2,33	4,15± 2,5	3,4 ± 2,12
$TSH_{25'}$	2,98± 1,82	12,79± 9,88	11,52± 9,03
$TSH_{45'}$	3,78± 2,26	12,46±11,18	11,7 ± 7,7
$TSH_{25'/45'}$	1,51± 0,65	0,96± 0,38	1,2 ± 0,7

In allen Teilkollektiven wurden zwar niedrige, aber im Normalbereich liegende TSH-Basalkonzentrationen ermittelt.

Bei den im TRH-Test erreichten Werten von TSH fielen Patientinnen mit AN_S durch einen signifikant unter den Vergleichskollektiven liegenden response auf (p<0.001

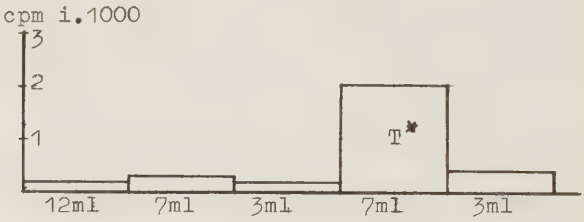
für AN_S/AN_L ,$p<0.005$ für AN_S/AR nach 25 und 45 Minuten). Außerdem war in dieser Gruppe ein protrahiert verlaufender TSH-Anstieg nach TRH zu verzeichnen ($TSH_{\frac{45}{25}}$ normal $\leq 1{,}3$). Die maximalen Konzentrationen wurden erst nach 45 Minuten erreicht. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen bei AN_L und AR, der Unterschied zwischen AN_S und AN_L erwies sich als signifikant.($p<0.005$).
Die Plasmakonzentrationen von T_3 lagen im Kollektiv AN_S signifikant unter denen der Gruppen AN_L und AR ($p<0.001$), während sich für die im allgemeinen niedrigen T_4-Werte keine signifikanten Unterschiede in den Einzelkollektiven ergaben.
Patientinnen mit AN_S zeigten eine statistisch signifikante Korrelation ihrer Testosteron- und T -Konzentrationen ($r=-0.65$ $p<0.05$).

g) 17-Ketosteroide

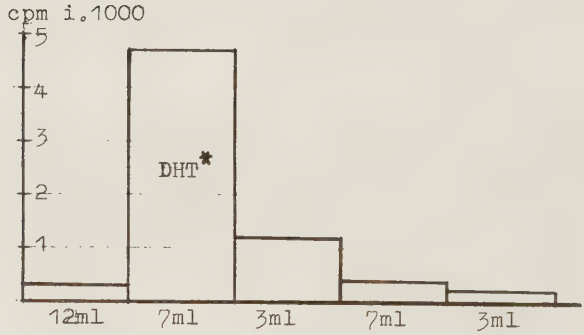
Die nach der Methode von Zimmermann bestimmte Ausscheidung der 17-KS im Urin war in allen drei Gruppen in etwa die gleiche, sie lag bei einem Durchschnittswert von 9,15 ng/24h im unteren Bereich der Norm. Korrelationen mit Konzentrationen von T oder DHT konnten nicht nachgewiesen werden.

Diagramm 1 : Elutionsfraktionen von radioaktiv markiertem T und DHT bei Trennung über Sephadex-LH 20 Säulen

1. T*



2. DHT*



3. T* + DHT*

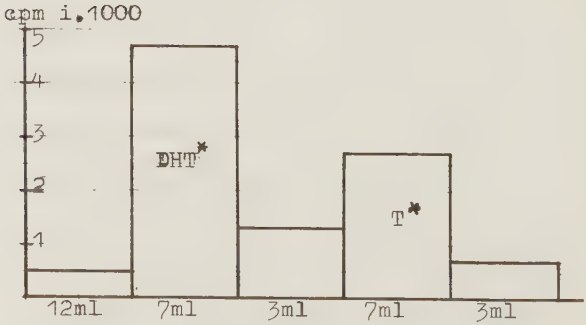


Diagramm 2 : Anordnung der Proben und Pipettier-vorschrift für RIA

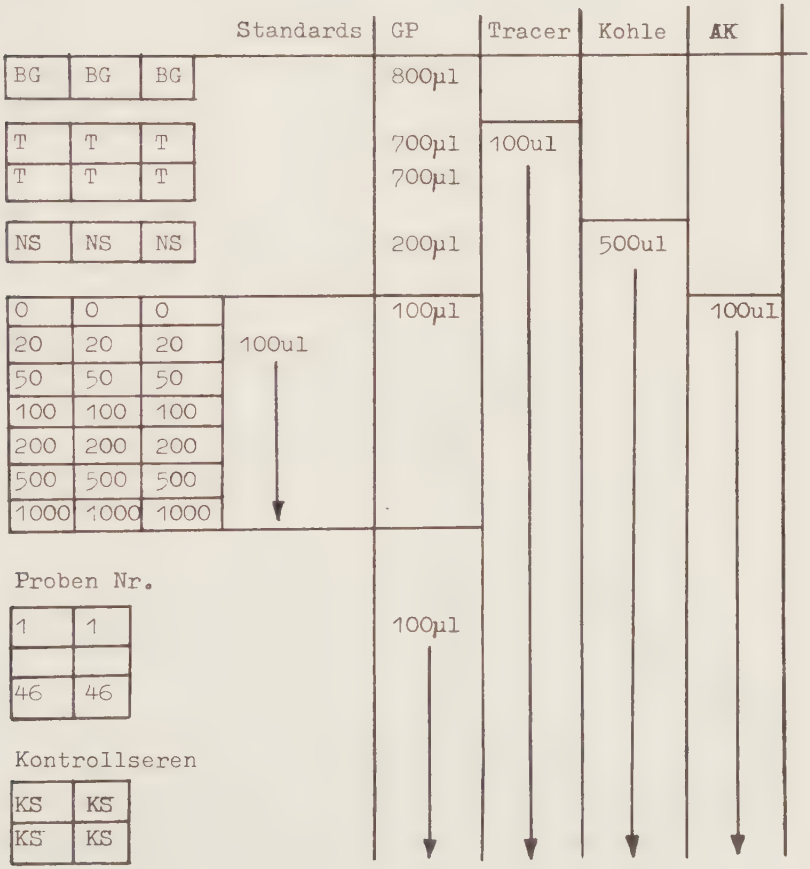


Diagramm 6 : Plotter-Ausdruck

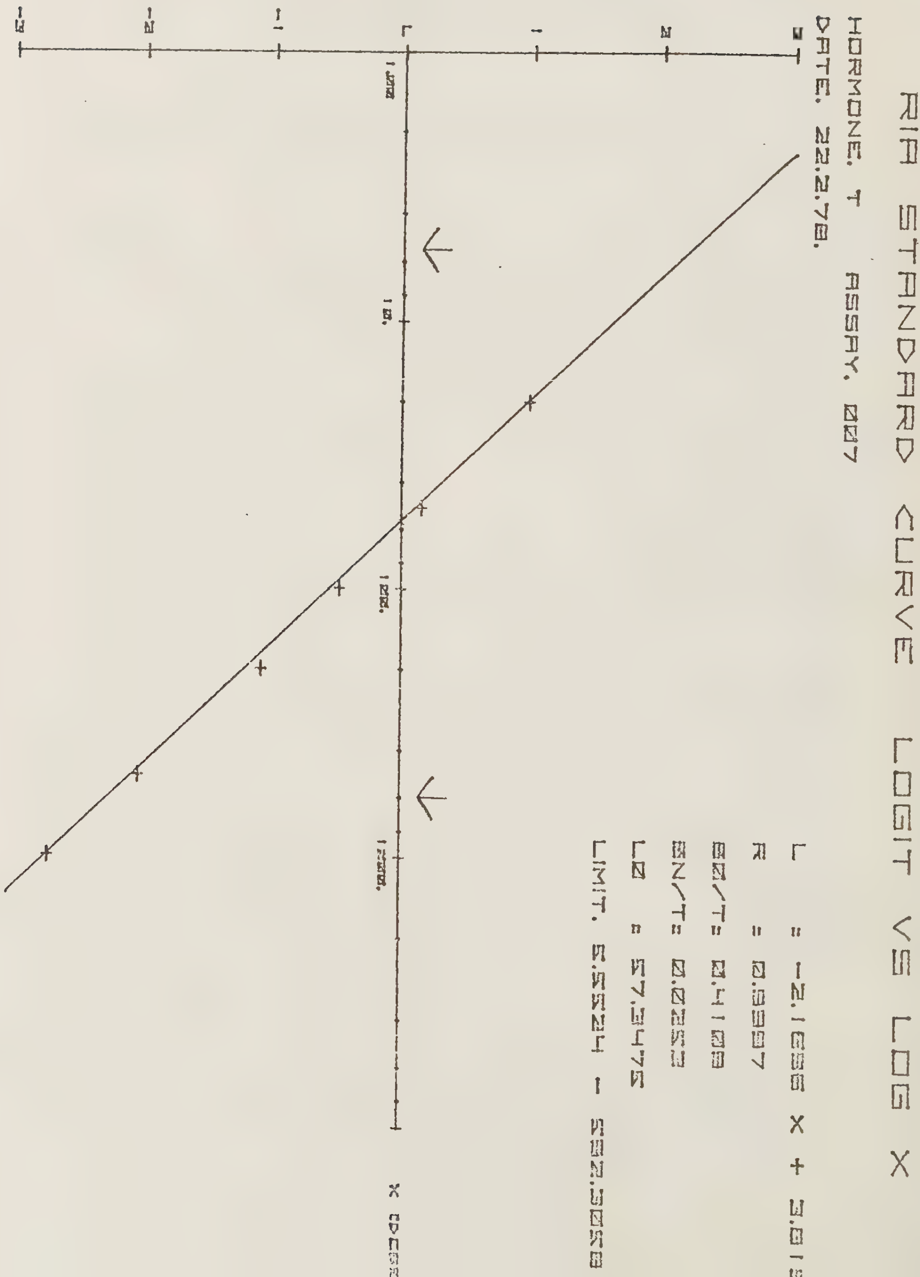
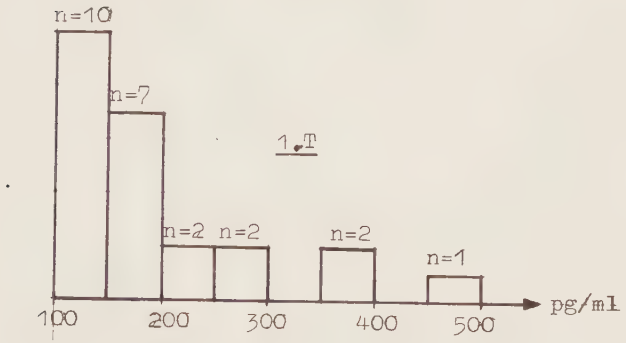


Diagramm 3 : Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT in einem Normalkollektiv von 24 Frauen

1. Häufigkeitsverteilung für T



2. Häufigkeitsverteilung für DHT

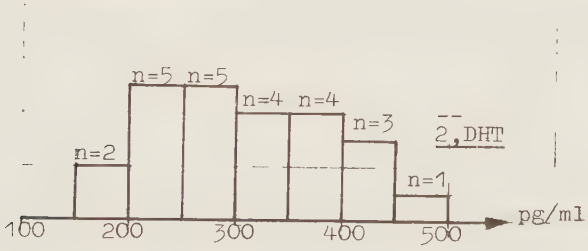


Diagramm 4 : Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT im Gesamtkollektiv

1. Häufigkeitsverteilung für T

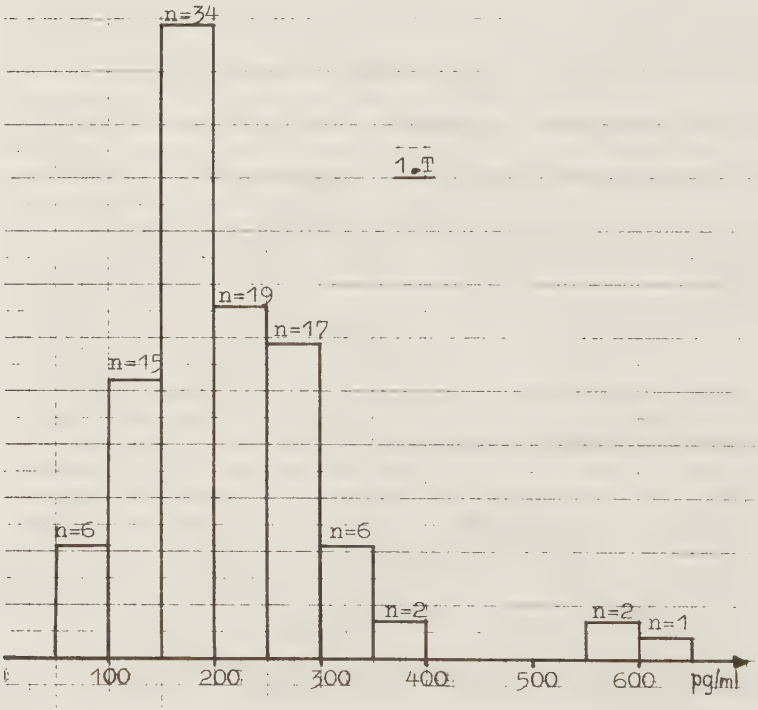


Diagramm 4 : Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT im Gesamtkollektiv

2. Häufigkeitsverteilung für DHT

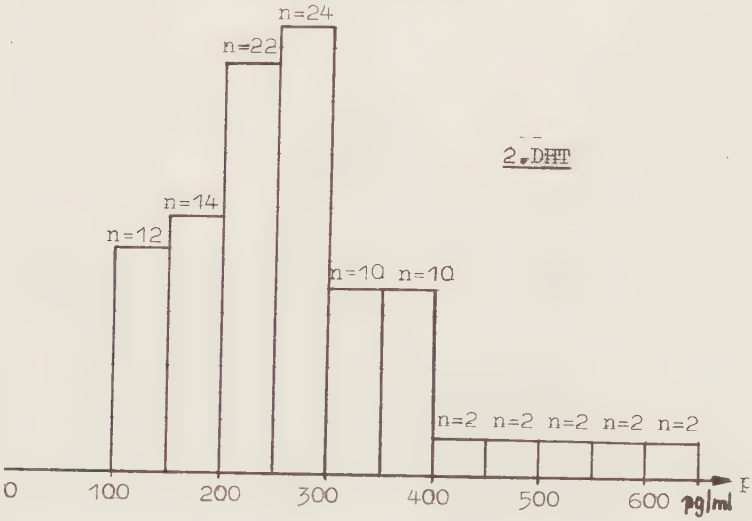


Diagramm 5 : prozentuale Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT im Vergleich zum Normalkollektiv

1. Häufigkeitsverteilung für T

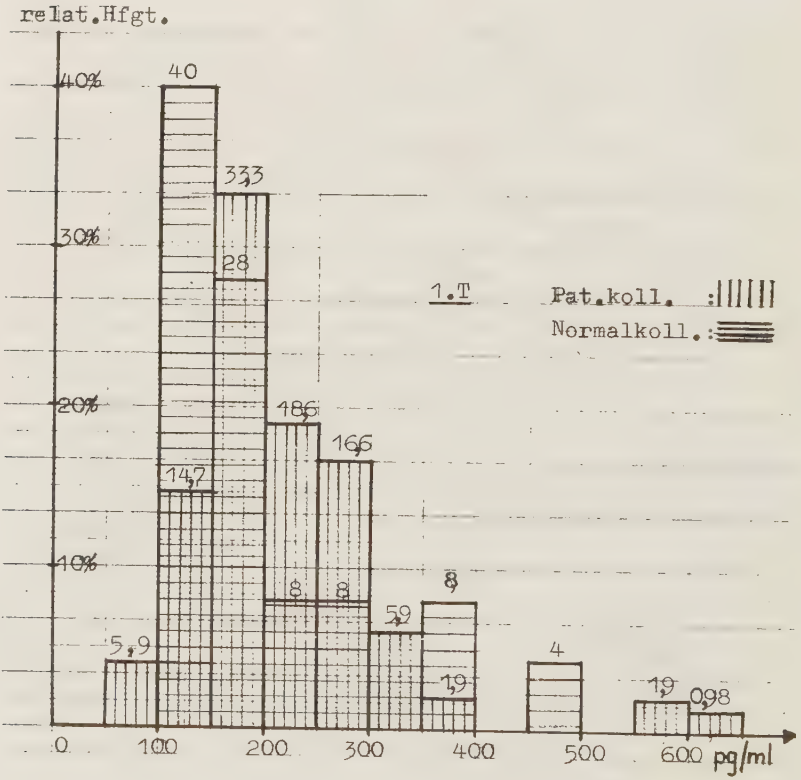
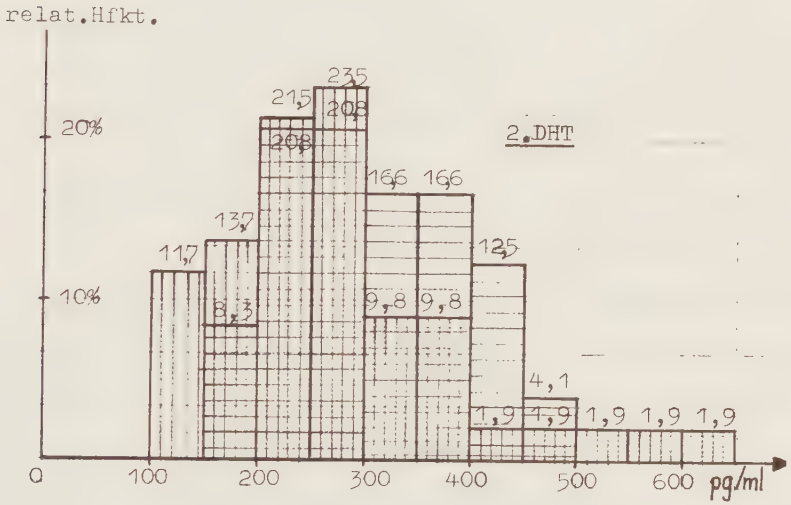


Diagramm 5 : prozentuale Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT im Vergleich zum Normalkollektiv

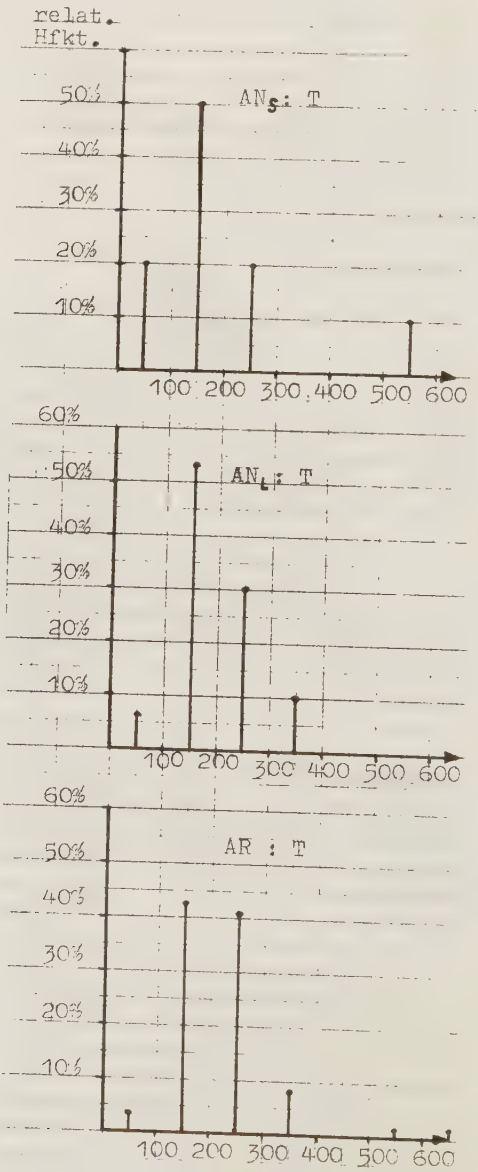
2. Häufigkeitsverteilung für DHT



Patientenkollektiv : ||||

Normalkollektiv: ≡

Diagramm 6 : prozentuale Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT in den Kollektiven AN_S, AN_L und AR



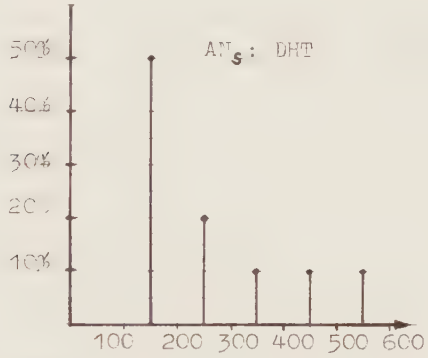
1. AN_S : T

2. AN_L : T

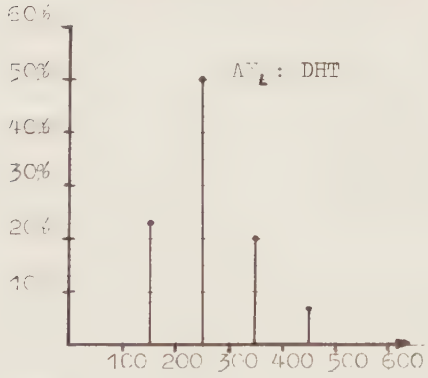
3. AR : T

Diagramm 6 : prozentuale Häufigkeitsverteilung von T und DHT in den Kollektiven AN_S, AN_L und AR

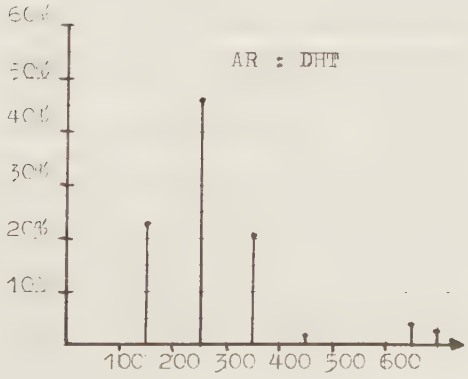
4. AN_S: DHT



5. AN_L: DHT



6. AR : DHT



4. DISKUSSION

Der Hormonstatus von Frauen mit Anorexia nervosa wird in zahlreichen Studien beschrieben, wobei deren Schwerpunkt hauptsächlich in der Bestimmung der Gonadotropin- und Östrogenkonzentrationen liegt. Die gonadal-androgene Funktion steht verständlicherweise im Mittelpunkt von Untersuchungen bei männlichen Patienten.

In den seltenen Fällen von Anorexia nervosa bei Männern entspricht den erniedrigten Östrogenspiegeln der Frauen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Verminderung der gonadotropinabhängigen Aktivität des analogen geschlechtsspezifischen Testosterons.
So berichtet Beaumont 1972 von einer reduzierten Ausscheidung des Testosteron-Glucuronids im Urin bei 31 männlichen Patienten, entsprechende Ergebnisse erhielt Russel 1970 bei fünf Männern.
Frankel und Jenkins 1975 fanden im Rahmen von endokrinologischen Untersuchungen bei Anorexia nervosa extrem niedrige Plasmaspiegel von Testosteron bei einem Patienten.

Gegenstand der hier vorliegenden Untersuchung war die Bestimmung der Testosteron- und Dihydrotestosteronkonzentrationen im Plasma von 62 Patientinnen. Ihre Krankheitsbilder wurden nach Kriterien von Frick (1975) als Anorexia nervosa und anorektische Reaktion klassifiziert. Um eine Beurteilung dieser Werte zu ermöglichen, wurden parallel dazu die Hormonspiegel von 24 gesunden Frauen ermittelt.
Im Vergleich zum Normalkollektiv erwiesen sich sowohl die Testosteron- als auch die Dihydrotestosteronkonzentrationen beim überwiegenden Teil der Patientinnen als normal. Fünf Prozent der Frauen lagen bezüglich ihres Testosteronwertes, sechs Prozent im Hinblick auf Dihydro-

testosteron oberhalb des Normbereichs. Mit Ausnahme einer Frau gehörten diese Patientinnen der Gruppe der anorektischen Reaktion an. Sie unterschieden sich in ihren klinischen Daten betreffend Körpergewicht, Amenorrhoedauer, Hirsutismus, Akne und den übrigen Hormonparametern nicht von den restlichen Frauen, die normale Androgenkonzentrationen aufwiesen. Entsprechendes gilt für Fälle mit erniedrigten DHT-Werten, die sich auf insgesamt 6% der 102 untersuchten Proben beliefen.

Ähnliche Ergebnisse erhielten andere Autoren, deren Untersuchungen allerdings auf Testosteron beschränkt waren und an verhältnismäßig kleinen Kollektiven durchgeführt wurden.
Travaglini et.al.(1976) fanden bei 15 Patientinnen mit Anorexia nervosa normale Testosteronspiegel, was Ergebnissen von Nillius et.al.(1974) entspricht, die Plasmawerte von vier anorektischen Frauen bestimmten.
Borghi et.al.(1976) berichten von normalen Plasmaspiegeln in neun Fällen von AN, von zwei Patientinnen mit niedrigen und einer Frau mit sehr hohen Testosteronkonzentrationen.
Crisp und Casey (1965) fanden bei fünf Patientinnen Testosteronwerte im oberen Normbereich. Entsprechendes ergaben Untersuchungen von Baba (1976) in Japan bei Hormonanalysen von vier erkrankten Frauen.
Im Widerspruch zu der vorliegenden Studie beschreiben Palmer et.al.(1975) erhöhte Konzentrationen von Testosteron im Plasma bei 12 Patientinnen mit Anorexia nervosa.
Graf und Winkler (1971) fanden bei der Bestimmung der Testosteron-Glucuronid-Ausscheidung im Urin in sechs von acht Fällen erhöhte Werte bei AN, die nach Behandlung und Gewichtszunahme auf normale Konzentrationen abfielen. Eine Erklärung hinsichtlich der Ursache einer solchen gesteigerten Androgenaktivität konnten sie nicht

abgeben zum damaligen Zeitpunkt.

Bei genauerer Betrachtung der hier vorliegenden Ergebnisse fällt bezüglich der Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen auf, daß 77% der DHT-Proben in der unteren Hälfte des Normbereichs liegen, während sich Testosteron-Werte gleichmäßig über den ganzen Normbereich verteilen. Diese Tendenz einer Verschiebung der Relation von Testosteron zu Dihydrotestosteron wird deutlich bei Berücksichtigung des Quotienten T/DHT. Dieser liegt im Patientenkollektiv mit 1:1,39 über dem Wert von 1:1,74, der sich bei den untersuchten gesunden Frauen ergibt.
Dies könnte als Hinweis auf einen veränderten Testosteronmetabolismus gewertet werden, wie er von Boyar und Bradlow (1977) beschrieben wurde. Sie fanden bei Patientinnen mit Anorexia nervosa deutlich erniedrigte Konzentrationen von Trijodthyronin und ein für den klinischen Status einer Schilddrüsenunterfunktion charakteristisches, vermindertes Verhältnis von Androsteron zu Ätiocholanolon im Urin. Die Tatsache, daß Androsteron durch 5α-Reduktion des Testosterons und Ätiocholanolon über den entsprechenden 5-ß-Stoffwechselweg entsteht, [illegible] legt den Schluß nahe, daß die veränderte Relation dieser Ausscheidungsprodukte auf eine herabgesetzte 5α-Reduktase-Aktivität zurückzuführen ist. Dies resultiert nach Boyar und Bradlow in der Konstellation mit verminderten [illegible]-Spiegeln aus einer durch Unterernährung bedingten hepatischen Dysfunktion und kann als Ausdruck eines "protektiven Hypometabolismus" im Zustand einer katabolen Stoffwechsellage gewertet werden.
Eine Verbindung zu unseren Ergebnissen ergibt sich insofern, als das hier bestimmte DHT ebenfalls über die 5α-Reduktase in androgenspezifischen Zielorganen aus Testosteron entsteht. Die beschriebene Verminderung der DHT-Konzentrationen bei Patientinnen mit Anorexia

nervosa könnte dementsprechend auf einen allgemeinen Hypometabolismus zurückgeführt werden.

Nach Calabresi et.al. (1976) entsteht Dihydrotestosteron bei der Frau zum überwiegenden Teil über periphere Konversion aus Androstendion. Nach Ito und Horton (1971) beläuft sich dieser Anteil an zirkulierendem DHT auf 2/3 der Gesamtkonzentration, während lediglich 20% über eine Reduktion von Testosteron synthetisiert wird.
Die bei uns ermittelten statistisch signifikanten Korrelationen für DHT und A und für DHT und T stehen damit in Einklang.
Im Hinblick auf die Funktion des Androstendions als Synthesevorstufe auch für Testosteron überrascht es nicht, daß T und A signifikant korrelieren. Nach Givens (1978) sind 50% des Testosterons glandulären Ursprungs, die übrigen 50% entstehen in der Peripherie über den Δ^4-Stoffwechselweg aus Androstendion. Dies entspricht Ergebnissen bei Judd (1976) und Berichten von Schindler (1976).

Neben einer allgemeinen Abklärung des androgenen Hormon-Status bei der Gesamtheit der Patientinnen mit Anorexia nervosa lag ein Schwerpunkt dieser Studie in der vergleichenden Untersuchung der Teilkollektive AN_S, AN_L und AR. Wir erhofften uns Aufschluß über die Frage, ob die unterschiedliche Ausprägung der Erkrankung ihren Ausdruck in Konzentrationsänderungen von Testosteron und Dihydrotestosteron findet, wie dies für andere Hormonparameter bereits nachgewiesen wurde.
Patientinnen mit einer schwer verlaufenden Anorexia nervosa (AN_S) unterscheiden sich hinsichtlich ihrer durchschnittlichen Plasmaspiegel an T und DHT nicht von Frauen, die bereits unter Therapie stehen und deshalb eine mildere Ausprägung der Anorexie aufweisen (AN_L), und von solchen mit einer anorektischen Reaktion.

Bei näherer Betrachtung der Häufigkeitsverteilung von Hormonkonzentrationen der Einzelkollektive zeigen sich jedoch Unterschiede vor allem zwischen Patientinnen der Gruppe AN_S und AR.
So finden sich mehr als die Hälfte der Patientinnen mit den relativ tiefsten Werten von Testosteron im Kollektiv AN_S: zu 40% sind es Anorexie-Patientinnen mit schwerem Verlauf, zu 20 solche mit AN_L. Zudem liegen 40% der Frauen mit AN_S bezüglich ihres Testosteronwertes im unteren Zehntel der Gesamtrangliste. Demgegenüber setzt sich der Anteil mit relativ hohen Konzentrationen an Testosteron zum überwiegenden Teil aus Proben des Kollektivs AR zusammen. Aus dieser Gruppe rangieren doppelt soviele Fälle im oberen wie im unteren Zehntel der Gesamtrangliste.
Im Hinblick auf Dihydrotestosteron wird ein eher gegensätzliches Verhalten deutlich : hierbei gibt es keine Fälle von AN_S, die DHT-Werte im untersten Konzentrationsbereich aufweisen. Dagegen ist der Prozentsatz von Proben, die oberhalb der 90-Perzentile der Gesamtrangliste liegen, in diesem Kollektiv höher als der in den übrigen Gruppen ermittelte.Patientinnen mit AR weisen in der Verteilung ihrer DHT-Konzentrationen keine Besonderheiten auf.
Dies deutet darauf hin, daß Frauen mit schwerem Verlauf einer Anorexia nervosa zu niedrigen Konzentrationen von Testosteron und relativ höheren Spiegeln von Dihydrotestosteron neigen. Bei Patientinnen mit anorektischen Reaktionen ergeben sich eher Konstellationen von höheren T-Werten bei mittleren DHT-Werten.
Entsprechende Vergleiche der Konzentrationsverhältnisse von Testosteron und Dihydrotestosteron können dies bestätigen. Mit zunehmender Ausprägung des Krankheitsbildes von AR nach AN_L und AN_S wird eine Tendenz zu abfallenden Werten der Relation von T zu DHT von 1:1,25

über 1:1,35 zu 1:1,59 deutlich. Damit sind Ergebnisse aus Korrelationsberechnungen von DHT zum Körpergewicht bzw. Gewichtsverlust in Einklang zu bringen.
Patientinnen des Kollektivs AN_S zeigen ein umgekehrt proportionales Verhalten ihrer DHT-Konzentrationen zum Absolutwert ihres Körpergewichts, entsprechende Korrelationen ergeben sich beim Vergleich mit dem jeweiligen Körpergewicht der Patientinnen in Prozent ihres Idealgewichts. In Übereinstimmung damit steigen die Konzentrationen von Dihydrotestosteron mit zunehmendem Gewichtsverlust an.
Im Hinblick darauf, daß Patientinnen mit An_S in ihrem Körpergewicht signifikant unter, bezüglich des Gewichtsverlustes deutlich über den Gruppen AN_L und AR liegen, bestätigt sich demnach der oben beschriebene Trend zu höheren DHT-Konzentrationen im Kollektiv AN_S gegenüber AN_L und AR. Eine Erklärung dieses Befundes kann im Zusammenhang mit den übrigen zur Verfügung stehenden Ergebnissen derzeit nicht gefunden werden.

Die von uns ermittelten Plasmakonzentrationen von Gonadotropinen, Östrogenen, Schilddrüsenhormonen, von Prolaktin, Cortisol und 17-KS entsprechen Ergebnissen, wie sie in anderen früheren Untersuchungen beschrieben wurden (Dürr 1980, Keller 1976, Göser 1980). Da diese Hormonparameter nicht Gegenstand der vorliegenden Studie sind und lediglich zu Vergleichen mit den zugehörigen Konzentrationen an Testosteron und Dihydrotestosteron herangezogen werden, sollen ihre in Kapitel 3 dargestellten Werte nur im Zusammenhang mit Androgenen betrachtet werden.
Dabei kann beim überwiegenden Teil der statistisch überprüften Korrelationen kein für die drei Vergleichsgruppen konstantes oder regelhaftes Verhalten aufgezeigt werden. Auffallenderweise sind derartige Be-

ziehungen zwischen Androgenen und anderen Hormonen vor allem bei Patientinnen mit schwerem Verlauf einer Anorexia nervosa.nachzuweisen.
Besonderes Interesse verdienen hierbei die Gonadotropine, da diese die spezifischen, das Zyklusgeschehen der Frau regulierenden Hormone darstellen. Zahlreiche Autoren berichten über Zusammenhänge zwischen Androgenen und Gonadotropinen, zwischen Androgenen und reproduktivem System (11,21,65).
So fand Dörner (1970) Hinweise darauf, daß Störungen des reproduktiven Endokrinums der Frau, vor allem bezüglich der zyklischen und tonischen Funktionsabläufe des Hypothalamus, bereits intrauterin bedingt sein könnten. Hierbei sollen vor allem Veränderungen der Androgenkonzentrationen während der hypothalamischen Differenzierungsphase eine Rolle spielen.
Direkte Zusammenhänge zwischen Androgenen und Gonadotropinen werden in zyklusabhängigen Schwankungen der Testosteronkonzentrationen deutlich. Vermeulen und Verdonk (1976), Judd und Yen (1973) und andere (3,38, 90) wiesen einen Anstieg während des mittleren Zyklus-Drittels nach.
Nach Ryan et.al.(1972) wirken die aromatisierbaren Androgene Testosteron und Androstendion über eine Konversion zu Östrogenen in hypothalamischen Kerngebieten in qualitativ ähnlicher Weise wie diese auf das weibliche Zyklusgeschehen ein.
In die gleiche Richtung deuten Untersuchungen von Mahesh et.al.(1975), die bei männlichen Ratten eine Suppression der LH- und weniger ausgeprägt auch der FSH-Stimulierbarkeit nach Gaben von Testosteron fanden. Sie führten diese Regulation der Gonadotropinsekretion auf eine zentrale Konversion von Androgenen zu Östrogenen zurück.
Die Möglichkeit einer Beeinflußung der hypothalamischen FSH-Sekretion durch Dihydrotestosteron in hohen Dosen beschreiben Ebstein et.al.(1977).

Unter diesem Aspekt könnte das Ergebnis der Korrelationsberechnungen von Testosteron und Dihydrotestosteron zur FSH-Stimulierbarkeit der Patientinnen mit AN_S betrachtet werden: mit zunehmenden Konzentrationen von T und DHT ist eine abnehmende Stimulierbarkeit für FSH im LHRH-Test zu verzeichnen. Bei Patientinnen der Kollektive AN_L und AR kann dies nicht mehr nachgewiesen werden. Für maximale LH-Stimulationswerte und Testosteron bzw. Dihydrotestosteron ergeben sich zwar keine statistisch signifikanten Korrelationen, doch auch hier bestätigen sich negative Korrelationskoeffizienten, die einen entsprechenden Trend andeuten.
Eine möglicherweise bei Patientinnen mit AN_S wirksame, derartige Beeinträchtigung der hypophysären Gonadotropinsekretion durch Androgene ist nur verständlich im Zusammenhang mit den hier deutlich erniedrigten Östrogenkonzentrationen bei normalem Testosteron und Dihydrotestosteron, d.h. einem relativen Überschuß an Androgenen.
Die ebenfalls im Kollektiv AN_S ermittelte, signifikante Korrelation von basalen FSH- und Testosteronkonzentrationen kann als Hinweis auf dessen ovariellen Ursprung gewertet werden. Nach Abraham (1974) schwankt der ovarielle Anteil an der Sekretion von Testosteron im Normalfall zwischen 33 und 60 Prozent. Andererseits korrelieren bei denselben Patientinnen die Testosteronwerte mit Konzentrationen von Cortisol, was einen nicht unbeträchtlichen Anteil der Nebennierenrinde an der Syntheserate von Testosteron wahrscheinlich macht.

Entsprechend den Ergebnissen aus anderen Untersuchungen von Bell (1966) und Silverman (1974) erweist sich die Ausscheidung der 17-Ketosteroide im Urin bei allen Patientinnen als normal-niedrig, Korrelationen mit Testosteron oder Dihydrotestosteron ergeben sich nicht. Nach Kley und Krüskemper (1973) entstehen 60 Prozent der

17-Ketosteroid-Konzentration aus Dehydroepiandrosteron, Testosteronmetaboliten machen demnach nur einen geringen Prozentsatz aus.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 62 Patientinnen mit psychogener Amenorrhoe wurden in 102 Proben die Konzentrationen von Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma radioimmunologisch bestimmt. Nach psychopathologischen Aspekten und der Ausprägung ihres Krankheitsbildes teilte sich das Gesamtkollektiv auf in Patientinnen mit schwerem Verlauf einer Anorexia nervosa, in solche, die bereits unter Therapie standen und Patientinnen mit anorektischer Reaktion.
Es ergaben sich für Plasmaspiegel von Testosteron und Dihydrotestosteron im Vergleich zu einem Kollektiv gesunder Frauen beim überwiegenden Teil der Patientinnen normale Werte.
Der über andere Hormonparameter nachgewiesene Hypogonadismus scheint sich demnach nicht auf die Konzentrationen der hier gemessenen Androgene auszuwirken.
Eine Verschiebung der Relation von Testosteron zu Dihydrotestosteron zugunsten von Testosteron, und die Tatsache,daß die Mehrzahl der Patientinnen bezüglich ihres DHT-Wertes in der unteren Hälfte der Norm lagen, machen eine Veränderung im Testosteronmetabolismus wahrscheinlich. Dieser könnte im Zusammenhang stehen mit einem hier vorliegenden allgemeinen katabolen Zustand der Patientinnen.
Die einzelnen Kollektive unterschieden sich nicht in ihren durchschnittlichen Konzentrationen von T und DHT. Es zeigte sich allerdings mit abnehmendem Körpergewicht der Patientinnen und zunehmender Ausprägung des Krankheitsbildes eine Tendenz zu steigenden Werten von DHT im Verhältnis zu solchen von T. Insgesamt aber bestätigten sich auch hier normale Testosteron- bei eher erniedrigten Dihydrotestosteronkonzentrationen.

6. ANHANG: Tabellen

Teilkollektiv AN_S

Clomiphent. / Gestagent.						-/-				-/+	
Amen.-Dauer	(Mon)	60	72	72	24	8			78	9	65
Gew.-Verlust	(kg)	7	7	7	22	38	9			27	24
Max.-Gew.	(kg)	52	52	48	58	73	38			64	75
Min.-Gew.	(kg)	37	37	41,3	34	35	73			36,7	50,2
Test.-Gew.	(kg)	45	45	41,3	36	35	35		27,6	36,7	50,2
TSH_B	(ng/ml)	4,7	2,9	2,9	8,2	4,9	4,9	1,8	2,3	0,3	6,3
T_4	(ng/ml)	4,2	5,4	6,9	6,1	3,8	3,7	1,2	8,4	4,6	7,5
T_3	(ng/ml)	61	55	67	56	37	48	78	46	78	74
HPGI		BI /RO	BII/R2	BII/RO	BI /RO	BI /RO	BI /RO	BI /RO	BI /RO	BI /RO	BI /R2
FSH_B	(ng/ml)	96	114	133	67	352	62	58		118	50
LH_B	(ng/ml)	22	31	37	21	27	0	8	15	28	28
Prol.	(ng/ml)	3	2	30	11	13	1	3	3	1	4
E_2	(pg/ml)	23	20	25	6	2	9		14	42	27
Cort.	(ng/ml)	111	75	63	204	180	47		113		27
17-KS	(pg/ml)	8,7	8,7	19,6	3,6				9,5	9,6	9,4
DHT	(pg/ml)	161	176	189	243	284	188	160	509	440	231
T	(pg/ml)	101	151	107	219	589	93	89	279	189	135
Test-Nr.		355	686	510	670	685	705	716	1002	1100	413

Teilkollektiv AN_L

Test.-Nr.	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	17-KS (pg/ml)	Cort. (ng/ml)	E_2 (pg/ml)	Prol. (ng/ml)	LH_B (ng/ml)	FSH_B (ng/ml)	HPGI	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)	TSH_B (ng/ml)	Test-Gew. (kg)	Min.-Gew. (kg)	Max.-Gew. (kg)	Gew.-Verlust (kg)	Amen.-Dauer (Mon)	Gestagent.	Clomiphent.
331	161	157	6,3					27	103 BI /R2			3,3	50	42	70	20	11		
346	287	267	7,2	66	53	2	3[illegible]	157	BII /R1	79	5,3	4,0	52	36	63	12	105		
759	339	377	7,2		12	2	0	77	BI /R1	98	6,7	6,2	55	36	62	10	108		
511	80	141	4,6	141	15	4	49	224	BII /R1	60	4,7	4,8	46		61	16	26		
691	295	361	4,6	74	17	11	61	264	BII /R2	61	5,8	5,5	50	46	61	12	32	+/+	
696	303	421	8,8	101	13	14	57	325	BII /R1	75	4,9	4,6	52	48			66	-/+	
707	252	274	4,5	84	24	12	7	138	BI /R1	72	5,3	5,7	44				102	-/+	
585	203	271	13,1	70	33	6	87	233	BIII/R2	79	6,8	4,3	44	42	54	10	20	/+	
708	162	316	13,1	153	18	14	7	139	BI /R1	88	5,4	5,8	44	43	54	10	25	/+	
675	192	205	9	150	21	10	58	440	BII /R1	92	7,7	4,9	44	43	50	6	18	-/+	
682	180	217	12,7	106	46	4	46	285	BII /R2	60	3,7	5,7	46	40	55	9	16	-/+	
748	153	285	9,4	129	9	6	0	82	BI /RO	75	5,7	0,9	45	45	45	20	75		
970	186	319	4,7	63	83	30	1	47	BII /RO	84	6,5	1,3	49	45	75	26	82		
669	87	107	6,4	162	9	31	32	272	BII /R1	86	10	4,9	70	42			36		
1079	120	477	6,5		86	95	69	291	BIII/R2	94	5,9	0	69	42			39		

Teilkollektiv AN_I - Fortsetzung

Test-Nr.	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	17-KS (pg/ml)	Cort. (ng/ml)	E_2 (pg/ml)	Prol. (ng/ml)	LH_B (ng/ml)	FSH_B (ng/ml)	HPGI	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)	TSH_B (ng/ml)	Test-Gew. (kg)	Min.-Gew. (kg)	Max.-Gew. (kg)	Gew.-Verlust (kg)	Amen.-Dauer (Mon)	Gestagent.	Clomiphent.
713					13	16	0	93	BI	/R1	80	5,4	2		41	53		8	
763	300	272	22		72	19	4	9	242	BI	/R1	120	8,5	0,3	48	41	48	1	29	+/+
780	157	149			71	52	9	3	211	BI	/RO	71	6,0	6,0	45	35	73	29	12	
783	136	191	7,1	90	11	5	27	230	BI	/R2	89	4,4	6,2	45					36	
791	137	144	3,6	79	33	0	29	250	BI	/R1	54	7,1	5,4	39	30	40	1			
1363	228	203	4,9			9	3	285	BI	/R1	83	5,9	3,0		34	58				
859	232	252	4,9	55	48	2	36	339	BII	/R1	86	7,1	9,4	54					106	-/+
994	275	297	0,6	81	93	0	50	139	BII	/R2	105	7,4	4,6	53	53	53	0	114		/+
991	167	282	8,8	31	41	0	60	189	BIII	/R1	88	8,2	1,1	45	45	52	7	30		/+
993	199	390	9,7	63	25	0	38	130	BII	/RO	76	4,2	1,6	50	50			81		/+
1003	199	273	6,2		33	9	32	123	BII	/R1	130	5,4	0,7	62	62	62	0	19		/+
1029	129	258	8,1		45	2	19	154	BI	/R1	85	4,7	3,1	44	54	54	10	20		-/+
843	245	260	8,1	72	63	3	42	391	BII	/R1	82	6,9	7,9	48	48	48	1	78		-/+
1009	170	174		230	74	2	51	158	BII	/R2	90	3,5	0,4	57	57	57	0	88		-/+
857	219	297	3,4	83	42	4	36	399	BII	/R2	132	6,6	8,1	44				0		
723	181	272	12,4	66	18	6	41	86	BII	/R2	68	5,0	6,1	53	22	33				

Teilkollektiv AR

Test-Nr.	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	17-KS (pg/ml)	Cort. (ng/ml)	E_2 (pg/ml)	Prol. (ng/ml)	LH_B (ng/ml)	FSH_B (ng/ml)	HPGI	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)	TSH_B (ng/ml)	Test-Gew. (kg)	Min.-Gew. (kg)	Max.-Gew. (kg)	Gew.-Verlust (kg)	Amen.-Dauer (Mon)	Gestagent.	Clomiphent.
969	211	217	12,3		20	4	16		BI /R2	78	3,2	1,5	56	55	62	6	5		
341	100	257	8,0	265	21	12	18	87	BI /RO	57	5,4	4,8	43	43	48	1	16		
689	182	231	8,0	76	29	1	39	347	BII /R2	84	6,4	7,1	44	43	48	6	22		
1014	227	230	13,0		121	2	28	64	BI /R2	79	3,3	1,4	45	42	48	3	37		
362	188	103	9,0	99	45	4	33	144	BII /R2	93	5,6	2,5	51	42	56	5	17		
369	208	212	13,6	119	38	11	18	102	BII /R1	92	5,4	4,7	53	52	63	5	18		
674	272	284	13,6	81	20	1	58	350	BII /R2	80	4,5	4,4	53	52	63	10	18		
913	242	151	13,6	55	141	14	59	86	BII /R2	82	5	2,0	58	52	63	5	13	+/+	
374	235	274	5,1	87	6	1	26	88	BI /R2	82	6,6	3,6	57	40	60	3	24		
442	228	229	5,1	149	10	1	194	96	BIII/R1	79	7,1	4,9	55	40	60	5	24		
390	256	354	3,7	57	7	5	11	103	BI /R2	73	3,2	3,4	48	47	53	5	42	-/+	
427	119	179	6,7	57	13	12	63	695	BIII/R1	102	8,2	5,7	46	44	50	4	52		
719	186	278	6,7		10	1	19	129	BI /R1	82	6	4,5	45	45	50	5	61	+/+	
429	245	314	10,3	75	22	2	96	65	BIII/R2	63	4,9	6,0	46	46	46	9	10		
470	280	293	6,2	109	18	0	39	157	BII /R1	88	5,3	1,9	52	52	50	10	38		
820	230	228	16,7	102	25	6	55	411	BII /R2	86	5,2	4,4	56	56	50	6	51	+/+	

Teilkollektiv AR - Fortsetzung

Test-Nr.	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	17-KS (pg/ml)	Cort. (ng/ml)	E_2 (pg/ml)	Prol. (ng/ml)	LH_B (ng/ml)	FSH_B (ng/ml)	HPGI	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)	TSH_B (ng/ml)	Test-Gew. (kg)	Min.-Gew. (kg)	Max.-Gew. (kg)	Gew.-Verlust (kg)	Amen.-Dauer (Mon)	Gestagent.	Clomiphent.
973	392	321	16,7	61	37	0	60	121	BII /R1	98	6,3	2,7	56	50	62	8	60	+/+	
522	87	116	3,1	133	23	5	67	162	BIII/R2	67	8,4	6,8	46	43	54	8	72	+/+	
764	262	221		112	34	3	42	194	BII /R2	102	7,6	1,7	53	43	54	2	79	-/+	
948	199	188		133	40	3		148	BI /R1	113	5,9	8,4		43	54		88	+/+	
550	335	302			59	1	86	214	BIII/R2	76	4,4	6,4	45	44	48	4		-/+	
370	205	225	17,5	181	22	0	3	252	BI /RO	73	5,9	2,2	54	54	64	10	16		
979	610	591	5,0		119	20	21	78	BI /RO	79	7,7	2,3	42	42	50	8	32	-/+	
654	573	363	10,3	139	19	8	97	295	BIII/R2	127	6,7	5,3	55	48	62	6	24	-/+	
680	269	232	9	151	8	17	32	222	BII /RO	78	4,6	7,3	47	45	61	5	12	-/+	
819	153	190	8,5	92	32	3	16	248	BI /RO	70	5,4	5,6	51	45	61	10	18	-/+	
986	195	288	8,5	92	32	9	27	109	BI /RO	112	5,5	1,7	61	45	61	0	24		
690	65	134	5,6	67	12	8	30	347	BI /RO	84	6,4	4,4	50	47	63	13	5		
936	179	102	6	105	40	0	33	116	BI /RO	92	7,3	1,7	54	47	63	9	9		
736	196	273	12	101	17	2		98	BI /RO	62	5,7	2,7	52	49	60	8	36		
749	252	312	7,3	86	64	6	25	128	BI /R1	66	4,2	0	56						

Teilkollektiv AR - Fortsetzung

Test-Nr.	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	17-KS (pg/ml)	Cort. (ng/ml)	E_2 (pg/ml)	Prol. (ng/ml)	LH_B (ng/ml)	FSH_B (ng/ml)	HPGI	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)	TSH_B (ng/ml)	Test-Gew. (kg)	Min.-Gew. (kg)	Max.-Gew. (kg)	Gew.-Verlust (kg)	Amen.-Dauer (Mon)	Gestagent.	Clomiphent.
769	260	326	4,2	189	28	11	30	221	BII	/R1	76	4,3	8,4	47				55	
775	164	216	6,3		17	4	29	210	BI	/R2	76	7,1	3,3	50	50	58	8	16	-/+
789	107	105		106	13	15	28	180	BI	/R1	79	3,8	7,3	50	44	57	7	66	-/+
790	222	23311,3		108	24	7	42	292	BII	/R2	70	6,6	4,6	51	48	62	11	24	-/+
872	317	47023,4		74	26	0	38	215	BII	/R2	63	4,5	4,4	57	50			71	
934	195	212	9,9	93	20	1	22	49	BI	/RO	78	6,4	1,2	42	40	53	11	15	-/+
940	257	233	8,7	141	13	4					74	5,0	1,3	48				10	
941	298	244	8,9	157	37	3	18	128	BI	/RO	86	6,6	2,1	50	68		14	36	-/+
330	145	13310,4		121	29	6	24	103	BI	/RO	51	4,5	2,7	51	48	62	11	16	
750	163	18910,3		143	10	3	15	155	BI	/R1	81	6,0	1,1	51	48	60	9	28	+/-
944	119	102	3,6	124	46	1		116	BI	/RO	55	4,6	1,9	51	48	60	7		
945	180	188	4,4	101	13	1		116	BI	/R2	114	6,0	7,6	53	47	58	9	37	+/+
971	211	264	6,2	58	29	0	25	3	BI	/R1	89	6,6		49	38	44	6	12	
974	188	363	6,0	96	42	1	33	169	BI	/R1	100	7,2	2,6		46	62	13	12	
983	234	28011,3			14	0	22	158	BI	/R1	88	5,0	3,6	49	46	60	10	21	

Teilkollektiv AR - Fortsetzung

Test-Nr,	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	17-KS (pg/ml)	Cort (ng/ml)	E_2 (pg/ml)	Prol. (ng/ml)	LH_B (ng/ml)	FSH_B (ng/ml)	HPGI	T_3 (ng/ml)	T_4 (ng/ml)	TSH_B (ng/ml)	Test-Gew. (kg)	Min.-Gew. (kg)	Max.-Gew. (kg)	Gew.-Verlust (kg)	Amen.-Dauer (Mon)	Gestagent.	Clomiphent.
992		301	6,6	50	12	0	59	40	BII /R2	62	4,7	1,2	46		68	12	90	-/+	
995	254	344		74	29	1	12	9	BI /RO	88	5,7	2,2	43		51	8	9	-/+	
996	215	629		161	19	3	21	132	BI /RO	87	5,3	1,8	43	42	50	7	36	-/+	
1001	101	213	4,0		30	0	22	10	BI /R2	93	5,5	2,3	50				48		
1159	163	200	4,3			2	80	291	BIII/R2	75	5,4	1,3	50				48		
1016	198	275	11,5		48	4	24	224	BI /R2	80	4,5	2,3	48	46	70	22	16	-/+	
1018	181	331	9,4		59	4	16	270	BI /R1	53	4,7	1,1	52	45	56	4		-/+	
1019	214	365	11,7		35	4		51	BI /RO	70	5,5	2,4	47	40	64	17	17	-/+	
1049	397	503			123	4	40	239	BII /R1	82	4,4	0,9						-/+	
1059	279	617	19,8		33	3	45	267	BII /R1	70	4,6	1,4	56	47	56	2	8		
1062	180	242			29	4	38	277	BII /R1	109	6,0	2,1	41		53	12	96	+/+	
1067	126	356			38	1	37	280	BII /RO	56	4,3	2,4						+/+	
1073	349	575	9,8		85	1	50	325	BII /RO	79	6,2	0,9	46					+/+	
1166	176	289	11,1			1	58	148	BI /RO	97	4,5	2,9	46	53	53		19	-/+	
1215	105	147			22	3	22	199		110	4,1	5,5	56				11		

7. LITERATURVERZEICHNIS

(1) ABRAHAM,G.E.: Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle.
J.Clin.Endocrinol.Metab.39/2:340-6(1974)

(2) ABRAHAM,G.E.: Radioimmunoassay of steroids in biological materials.
Acta Endocr.(Kbh) Suppl.183: 7-39 (1974)

(3) AEDO,A.,NUNEZ,M.,LUNDGREN,B.M.,CEKAN,S.Z.,DICZFALUSY,E.
Studies on the pattern of circulating steroids in the normal menstrual cycle.
Acta Endocr.(Kbh) 84: 320-32 (1977)

(4) APTER,D.,VIHKO,R.: Hormonal changes in puberty: serum pregnenolon,progesteron,17-OH-progesteron,testosteron,DHT in maturating girls.
Acta Endocr.(Kbh) Suppl.199: 122 (1975)

(5) ARO,A.,LAMBERG,B.A.,PEKONEN,R.: Dysfunction of the hypothalamic-pituitary axis in Anorexia Nervosa.
New Engl.J.Med. 594 (1975)

(6) ARO,A.,LAMBERG,B.A.PEKONEN,R.: Hypothalamic endocrine dysfunction in Anorexia Nervosa.
Acta Endocr. 85: 673-83 (1977)

(7) BABA,H.: RIA of serum testosteron
Folia Endocr.Jap. 49: 60-79 (1973)

(8) BACKER,M.H.,CAVANAGH,D.: Secondary amenorrhoe
Med.Clin.Amer. 52 (2) (1968)

(9) BAIRD,T.D.,BURGER,P.E.,HEAVON-JONES,G.D.,
SCARAMUZZI,R.J.: The site of secretion of androstendion in non-pregnant women
Ber. ges. Gegh. Gyn. 110 (1975-76)

(10) BEHR,W.: Direkte Wirkung von Testosteron auf das Rattenovar
Zentralblatt f. Gyn. 4: 113-18 (1971)

(11) BELL,E.T.,HARKNESS,R.A.,LORAINE,J.A.,RUSSEL,G.F.M.:
Hormone assay studies in patients with Anorexia Nervosa
Acta Endocr.(Kbh) 51: 140-48 (1966)

(12) BEAUMONT,P.J.V.,BEARDWOOD,C.J.,RUSSEL,G.F.M.:
Anorexia Nervosa in males
Br.Med.J. 23: 686 (1972)

(13) BEAUMONT,P.J.V.,GEORGE,G.C.W.,PIMSTONE,B.L.,
VINIK,A.J.: Body weight and the pituitary response to hypothalamic releasing hormones in patients with Anorexia Nervosa
J.Clin.Endocrinol.Metab.43: 487-95 (1976)

(14) BOHNET,H.G.,DAHLEN,H.G.,KELLER,E.,FRIEDRICH,E.,
SCHINDLER,A.E.,WYSS,H.J.,SCHNEIDER,H.P.G.:
Human pituitary gonadotropin index, LHRH-test and clomiphen response before and after LHRH stimulation
Clin.Endocrinol. 5: 25-36 (1976)

(15) BORGHI,A.,FORTI,G.,FUSI,S.,VIGIANA,C.,CALABRESI,E.,
CATTANI,C.: Disorders of hypothalamic-pituitary-ovarian axis in Anorexia Nervosa
in: The endocrine function of the human ovary James,V.H.(ed) Academic Press London (1976)

(16) BOYAR,R.M.,BRADLOW,H,L.: Studies of testosteron metabolism in Anorexia Nervosa
in: Anorexia Nervosa Vigersky,R.A.(ed)
Raven Press, New York (1977)

(17) BOYAR,R.M.: Control of the onset of puberty
Ann.Rev.Med. 29: 509-20 (1978)

(18) BRADLOW,H.L.,BOYAR,R.M.,O'CONNOR,J.,ZUMOFF,B., HELLMANN,L.: Hypothyreoid like alterations in testosteron metabolism in Anorexia Nervosa
J.Clin.Endocrinol.Metab.43: 574 (1976)

(19) BROWN,M.G.,GARFINKEL,A.E.,JEUNIEWIC,N.,MOLDOWSKY,H. STANCER,H.C.: Endocrine profiles in Anorexia Nervosa
in: Anorexia Nervosa Vigersky,R.A.(ed)
Raven Press, New York 123-35 (1977)

(20) CALABRESI,E.,FIORELLI,G.,FORTI,G.,LOMBARDI,G., PAZZAGLI,M.,DELL'ACQUA,E.,SERJO,M.:
Dihydrotestosteron in human ovarian venous plasma
Acta Endocr. 82: 380-7 (1976)

(21) COLE,A.: zitiert nach: MAWSON,A.R.: Anorexia Nervosa and the regulation of intake (57)

(22) COLLU,R.,DUCHARME,J.R.: Role of adrenal steroids in the regulation of gonadotropin secretion at puberty
J.Steroid.Biochem. 6: 869-72 (1975)

(23) CRISP,A.H.: Clinical and therapeutic aspects of Anorexia Nervosa - a study of 30 cases
J.Psychosom.Res. 9: 67-78 (1965)

(24) CRISP,A.H.;CASEY,J.H.: zitiert nach BORGHI,A.(15)

(25) CROXON,M.S.,IBBERTSON,H.K.: Low serum T_3 and hypothyreoidism in Anorexia Nervosa
J.Clin.Endocrinol.Metab.44: 167 (1977)

(26) DÖRNER,G.: Zur Frage einer neuroendokrinen Pathogenese angeborener Sexualdeviationen
Dtsch.med.Wschr. 94: 390-6 (1969)

(27) DÖRNER,G.: The influence of sexual hormones during the hypothalamic differentiation and maturation phase on gonadal function and sexual behaviour during the hypothalamic functional phase
Endokrinologie 56: 280-91 (1970)

(28) DÜRR,G.: Untersuchung der Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse bei Patientinnen mit Anorexia Nervosa und Anorektischer Reaktion und Vergleich mit dem gonadotropen Anteil dieses Systems
Med.Dissertation Tüb.1980

(29) DUCHARME,J.R.,FOREST,M.G.,DE PERETTI,E.,SEMPE,M.,COLLU, M.,BERTRAND,J.: Plasma adrenal and gonadal sex steroids in human pubertal development.
J.Clin.Endocrinol-Metab.42: 468 (1976)

(30) EPSTEIN,Y.,LUNENFELD,B.,KRAIEM,Z.: The effect of testosterone and its 5 reductal metabolits on pituitary responsivness to gonadotropin-releasing-hormone
Acta Endocr.(Kbh) 86: 728-32 (1977)

(31) ESPINOSA-CAMPOS,J.,ROBLES,C.,GUAL,C.,PEREZ-PALACIOS,G.: Hypothalamic,pituitary and ovarian function in a patient with Anorexia Nervosa
Fertil.Steril. 25: 453-58 (1974)

(32) FRAHM,H.: Anorexia Nervosa
in: Innere Medizin in Praxis und Klinik
Vol.4 G.Thieme Verlag Stgt. 1973

(33) FRANKEL,R.J.and JENKINS,J.S.: Hypothalamic and pituitary function in Anorexia Nervosa
Acta Endocr.(Kbh) 78: 209-21 (1975)

(34) FRICK,V.: Psychological aspects of secondary amenorrhoe
in: HIRSCH,H.(ed): The family p.245
Karger Basel 1975

(35) FRICK,V.: Sek.Amenorrhoe, eine psychosomatische Einführung nach einem Vortrag auf der VI. Seminarkonferenz für Frauenärzte
Frauenklinik Mainz, 1977

(36) FRIES,H.: Secondary amenorrhoe, self-induced weight reduction and Anorexia Nervosa
Acta Psych.Scand.Suppl.248 (1974)

(37) FRÖLICH,M.,BRAND,E. and EYLARD,V.: Serum levels of unconjugated aetiocholanolone,T,A, DHEA,aldosterone,progesterone and estrogens during the normal menstrual cycle
Acta Endocr.(Kbh) Suppl.184: 89 (1974)

(38) GIVENS,J.R.: Normal and abnormal androgen metabolism.
Am.J.Gyn. 21: 115-23 (1978)

(39) GÖSER,R.,KELLER,E.,FRICK,V. und SCHINDLER,A.E.: Kombinierter LRH/TRH-Test: Ergebnisse und Indikationen
Gynäkologie und Geburtshilfe/Forschungen Erkenntnisse, Separatum (VIII akad.Tag. dtsch. Hochschullehrer 1977)

(40) GRAEF,V. und WINKLER,G.: Testosteronausscheidung bei Anorexia Nervosa
Klin.Wschr. 49: 881 (1971)

(41) GULL,W.W.: The address in medicine
The Lancet II 171-6 (1868)

(42) GUPTA,D.,ATTANASIO,A. and RAAF,S.: Plasma estrogen and androgen concentrations in children during adolescence
J.Clin.Endocrinol.Metab.40: 636 (1975)

(43) HOLZER,R.: Radioimmunologische Bestimmung von A und DHEA im Plasma hirsuter Frauen vor und während Therapie mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol
Med.Dissertation, Tüb.(1980)

(44) ISMAIL,A.A.,HARKNESS,R.A. and LORAINE,J.A.: Some observations on the urinary excretion of testosterone during the normal menstrual cycle
Acta Endocr.(Kbh) 58: 685-95 (1968)

(45) ITO,T. and HORTON,R.: The source of plasma DHT in man
J.Clin.Invest. 50: 1621-27 (1971)

(46) JORES,A. zitiert nach LÜBKE,R. (53)

(47) JUDD,H.L. and YEN,S.S.C.: Serum androstendione and testosterone levels during menstrual cycle
J.Clin.Endocrinol.Metab. 36: 475-80 (1973)

(48) JUDD,H.L.: Hormonal dynamics associated with the menopause
Am.J.Obstet.Gyn. 19: 775 (1976)

(49) KAMES,C.: Radioimmunologische Bestimmung von Androstendion und Dehydroepiandrosteron im Plasma von Patientinnen mit Anorexia Nervosa
Med.Dissertation Tüb. (1980)

(50) KELLER,E.,FRICK,V.,SCHIER,U.,JÄGER-WHITEGIVER,E.R., FRIEDRICH,E.,GÖSER,R.,JOEL,E.W. und SCHINDLER,A.E.: Hormonprofile bei Patientinnen mit psychogener Amenorrhoe
in: Fortschritte zur Fertilitätsforschung, Grosse Verlag Berlin 1976

(51) KELLER,E.,SCHIER,I.,ZUBKE,W.,GÖSER,R.,FRIEDRICH,E., JOEL,E.W. and FRICK,V.: Anorexia Nervosa-anorectic reaction - chenges of gonadotropin responsivness to LHRH under long term follow up
Dtsch.Ges.Endokrinol. 22.Symp. 1977

(52) KLEY,H.K. und KRÜSKEMPER,H.L.: Androgene - Biochemie, Wirkweise, therapeutische Anwendung
Med.Klin.68: 295-305 (1973)

(53) LÜBKE,R.: Empirische Untersuchungen zur Genese, Differentialdiagnose und Therapie anorektischer Reaktionen bei jungen Mädchen
Diplomarbeit, Tüb. 1977

(54) LUNGGREN,H.,IKKOS,D. and LUFT,R.: Basal metabolism in women with obesity and anorexia nervosa
British Journal of Nutrition 15,21-34

(55) LUPTON,H.,SIMON,L. and BARRY,V.: Minireview: Biological aspects of Anorexia Nervosa Life Sc.18: 1341-48 (1976)

(56) MAHESCH,V.B.,MULDON,T.G.,ELDRIDGE,J.C., and KORACH,K. The role of steroid hormones in the regulation of gonadotropin secretion J.Steroid Biochem.6: 1025-36 (1975)

(57) MAWSON,A.R.: Anorexia Nervosa and the regulation of intake: a review Psychol. Med.4: 289 (1974)

(58) MOGUILEVSKY,J.A.,ENERO,M.A.,SZWARCFARB,B. and DOSORETZ,D.: Effects of castration and testostrone in vitro on the hypothalamic synthesis of different peptide fractions J.Endocr. 64: 155-61 (1975)

(59) MORTIMER,C.H.: Clinical application of the gonadotropin-releasing-hormone Clin.Endocrinol.Metab.6: 167-79 (1977)

(60) NILLIUS,L.J.,FRIES,H. and WIDE,L.: Succesfull induction of follicular maturation and ovulation by prolonged treatment with LHRH in women with Anorexia Nervosa Am.J.Obst.Gynec.8: 122 (1975)

(61) PALMER,R.L.,CRISP,A.H.,MACKINNON,P.C.B.,FRANKLIN,M. BONNAR,J. and WHEELER,M.: Pituitary sensivity to 50 µg LH/FSH-RH in subjects with Anorexia Nervosa in acute and recovery stages Brit.Med.J. 1: 179-82 (1975)

(62) PIMSTONE,B.:Endocrine function in protein-caloric malnutrition
Clin.Endocrinol.5: 79-95 (1976)

(63) RODBARD,D.,RAYFORD,P.L.,COPPER,J.A. and ROSS,G.T.: Statistical quality of radioimmunoassay
J.Clinic.Endocrinol.28: 1412 (1968)

(64) RODBARD,D. and CATT,K.J.: Mathematical theory of radioligand assays: the kinetics of separation of bound from free
J.Steroid Biochem.3: 225-64 (1972)

(65) RUSSEL,G.F.M. and BRUCE,J.T.: Capillary venous glucose differences in patients with disorders of appetites
Clin.Sci.26: 157 (1964)

(66) RUSSEL,G.F.M.: Anorexia Nervosa
Proc.Roy.Soc.Med.58: 811-14 (1965)

(67) RUSSEL,G.F.M. and BEARDWOOD,C.J.: Amenorrhoe in feeding disorders: Anorexia Nervosa and obesity
Psychother.Psychosom.18: 359-64 (1970)

(68) RUSSEL,G.F.M.: Clinical and endocrine features of Anorexia Nervosa
Trans,Med.Soc.Lond.87: 40-50 (1970)

(69) RYAN,K.J.,NAFTOLIN,F.,REDDY,V.FLORES,F. and PETRO,Z. Estrogen formation in the brain
Amer.J.Obstet.Gynec.114: 454 (1972)

(70) SCHINDLER,A.E.,SCHIER,T.,FRICK,V.,GUNDLING,F., GÖSER,R. and KELLER,E.: Psychogenic amenorrhoe: endocrine evaluation and follow up Int.Symp.Clin.Psycho-Neuro-Endocrinologie in Reproduction (1978)

(71) SCHINDLER,A.E.: Androgene der Frau - Physiologie und Pathophysiologie in: Sexualmedizin 5: 783-93 (1976)

(72) SCHINDLER,A.E.,KELLER,E.,GÖSER,R.,FRIEDRICH,E., ETZRODT,E.,BOHNET,H.G.,HANKER,J.P. et.al.: Evaluation of the reproductive system in amenorrhoe; in: Hypothalamic hormones and chemistry, physiology and clinical applications - D.Gupta und W.Voelter (Hrsg.), Verlag Chemie,D-6940 Weinheim,565-76,1978

(73) SCHINDLER,A.E.,FRICK,V.,GÖSER,R. and KELLER,E.: The endocrine profile of psychogenic amenorrhoe,correlations of hormonal and psychosomatic findings and effect of therapy; in: Emotion and reproduction Serono Symposia Vol.20A

(74) SHEEHAN,H.L. and SUMMERS,V.K.: The syndrome of hypopituitarism Quat.J.Med. 72: 319-82 (1948)

(75) SILVERMAN,J.A.: Anorexia Nervosa: Clinical observations in a succesfull treatment plan J.Pediatrics 84: 68-73 (1974)

(76) SILVERSTONE,T.T. and RUSSEL,G.F.M.: Gastric hunger concentrations in Anorexia Nervosa Brit.J.Psychiat. 113 (1967)

(77) SIMMONDS,M.: Über Hypophysenschwund mit tödlichem Ausgang Dtsch.med.Wschr.40: 322-23 (1914)

(78) TAMM,J.: Der Testosteronstoffwechsel beim Menschen - Biosynthese des Testosteron
Schweiz.med.Wschr.43: 1983-87 (1967)

(79) THOMÄ,H.: Anorexia Nervosa, Geschichte,Klinik,und Theorie der Pubertätsmagersucht
Huber/Klett Stgt. 1961

(80) TRAVAGLINI,P.,BECK'PECCOZ,P.,FERRARI,C.,AMBROSI,B., PARACCHI,A.,SEVERGNINI,A.,SPADA,A. and FAGLIA,G.: Some aspects of hypothalamic-pituitary function in patients with Anorexia Nervosa
Acta Endocr.(Kbh) 81: 252-62 (1976)

(81) VERMEULEN,A. and VERDONCK,L.: Plasma androgen levels during the menstrual cycle
Am.J.Obstet.Gynec.4: 125 (1976)

(82) VIGERSKY,R.A. and LORIAUX,D.L.: Anorexia Nervosa as a model of hypothalamic dysfunction
Obstet.Gynec.47: 309-18 (1976)

(83) WENTZ,A.C.,FACOG,JONES,G.S. and SAPP,K.: Pulsatile gonadotropin output in menstrual dysfunction
Obstet.Gynec.7: 309-18 (1976)

(84) WILLI,J. und HAGEMANN,R.: Langzeitverläufe von Anorexia Nervosa
Schweiz.med.Wschr. 106: 1459-65 (1978)

(85) WINTER,J.S.D.,FAIMAN,C. and REYES,F.J.: Normal and abnormal pubertal development
Clin.Obstet.Gynec. 21: 67-86 (1978)

(86) YEN,S.S.C.,REBAR,R.,VANDENBERG,G. and HUHH,H.:
Hypothalamic amenorrhea and hypogonadotropism: responses to synthetic LRF
J.Clin.Endocrinol.Metab.36:811-16 (1973)

LEBENSLAUF

Am 6. Juli 1952 wurde ich, Regine Keßler, als Tochter des Konrektors Josef Keßler und seiner Ehefrau Friede, geb. Kohler in Ludwigsburg geboren.

Von 1959 bis 1963 besuchte ich die Grundschule in Ingersheim, 1963 trat ich in das Aurain-Gymnasium in Bietigheim ein, wo ich 1971 mein Reifezeugnis erwarb.

Zum Wintersemester 1971/72 immatrikulierte ich mich an der Universität Stuttgart in den Fachbereichen Biologie und Chemie für das Höhere Lehramt. Im Sommersemester 1974 wechselte ich an die Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Zum Sommersemester 1975 erhielt ich dort einen Studienplatz für Medizin. Im April 1976 legte ich die Ärztliche Vorprüfung, 1977 den ersten Teil und 1979 den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab. Mein Praktisches Jahr absolvierte ich im Städtischen Krankenhaus Friedrichshafen, wo ich am 16.10.1980 mit dem dritten Teil der Ärztlichen Prüfung abschloß.

Die Approbation erhielt ich im Dezember 1980.